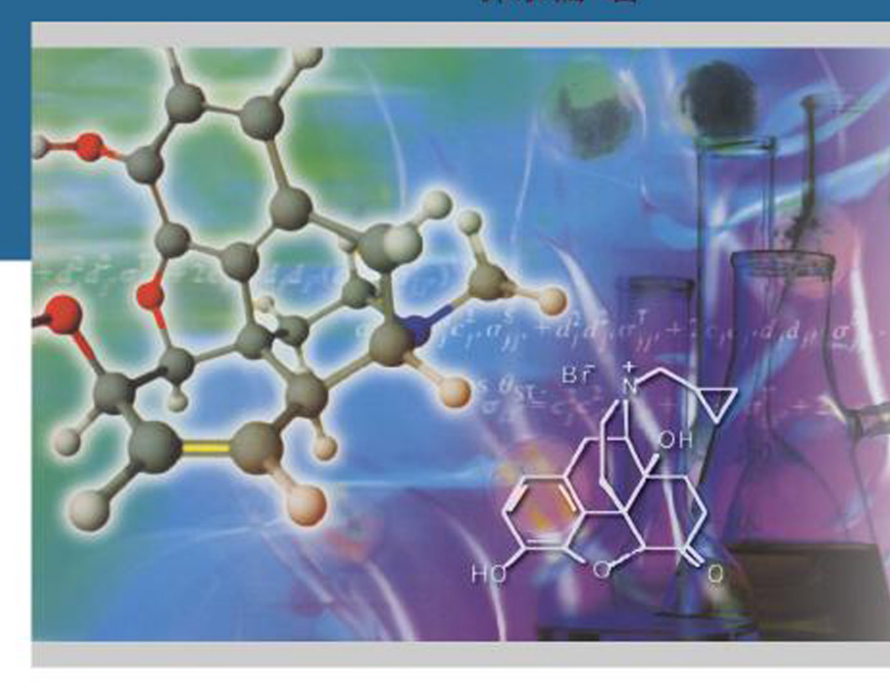
“十一五”国家重点图书出版规划项目

现代化学基础丛书 21

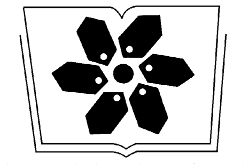
药物化学总论

第三版

郭宗儒 著



科学出版社
www.sciencep.com



中国科学院科学出版基金资助出版

"十一五"国家重点图书出版规划项目

现代化学基础丛书 *21*

药物化学总论

第三版

郭宗儒 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书以化学的视角，讨论药物与机体的相互作用，从药物分子的化学结构出发，结合物理化学性质，讨论与药理活性、药代动力学行为、毒副作用的依存关系。为了理解药物作用的分子基础，本书在介绍基础知识的基础上，注重药物化学与药理学的结合界面。药物构效关系、分子设计方法和策略等是本书的重点。

本书可供药科研究生、教师和从事药物研究人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

药物化学总论/郭宗儒著. —3版. —北京：科学出版社，2010
(现代化学基础丛书 21/朱清时主编)
ISBN 978-7-03-028793-9

I. ①药… II. ①郭… III. ①药物化学 IV. ① R914

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第166878号

责任编辑：黄 海/责任校对：李 影
责任印制：钱玉芬/封面设计：王 浩

科学出版社出版
北京东黄城根北街16号
邮政编码: 100717
http://www.sciencep.com
源海印刷有限责任公司印刷
科学出版社编务公司排版制作
科学出版社发行 各地新华书店经销
*
1994年11月第 一 版 开本：B5 (720 × 1000)
2010年9月第 三 版 印张：41 1/2
2010年9月第四次印刷 字数：840 000
印数：1—2 500

定价：98. 00 元

《现代化学基础丛书》编委会

《现代化学基础丛书》序

如果把牛顿发表“自然哲学的数学原理”的1687年作为近代科学的诞生日，仅300多年中，知识以正反馈效应快速增长：知识产生更多的知识，力量导致更大的力量。特别是20世纪的科学技术对自然界的改造特别强劲，发展的速度空前迅速。

在科学技术的各个领域中，化学与人类的日常生活关系最为密切，对人类社会的发展产生的影响也特别巨大。从合成DDT开始的化学农药和从合成氨开始的化学肥料，把农业生产推到了前所未有的高度，以致人们把20世纪称为“化学农业时代”。不断发明出的种类繁多的化学材料极大地改善了人类的生活，使材料科学成为了 20 世纪的一个主流科技领域。化学家们对在分子层次上的物质结构和“态-态化学”、单分子化学等基元化学过程的认识也随着可利用的技术工具的迅速增多而快速深入。

也应看到，化学虽然创造了大量人类需要的新物质，但是在许多场合中却未有效地利用资源，而且产生大量排放物造成严重的环境污染。以至于目前有不少人把化学化工与环境污染联系在一起。

在21世纪开始之时，化学正在两个方向上迅速发展。一是在20世纪迅速发展的惯性驱动下继续沿各个有强大生命力的方向发展；二是全方位的“绿色化”，即使整个化学从“粗放型”向“集约型”转变，既满足人们的需求，又维持生态平衡和保护环境。

为了在一定程度上帮助读者熟悉现代化学一些重要领域的现状，科学出版社组织编辑出版了这套《现代化学基础丛书》。丛书以无机化学、分析化学、物理化学、有机化学和高分子化学五个二级学科为主，介绍这些学科领域目前发展的重点和热点，并兼顾学科覆盖的全面性。丛书计划为有关的科技人员、教育工作者和高等院校研究生、高年级学生提供一套较高水平的读物，希望能为化学在新世纪的发展起积极的推动作用。

朱清时

前　　言

药物化学是一门应用基础学科，讨论的内容和涉及的范围非常广泛。在传统药物化学的基础上，分子生物学技术、生物信息学和结构生物学向药物研究中融入，为研制药物不断提供新的作用靶标，以靶标为核心成为新药研究的主导模式；组合方法和通量筛选，虚拟筛选和计算机辅助分子设计等方法的广泛应用，丰富了新药研发的途径；生命科学、化学生物学、计算机科学与新药创制的密切结合，以及研制药物的新策略、新方法的问世，充实了药物化学的内容，促进了学科的发展。药物化学已由经验性的学科发展成有理论支撑的成熟学科。

迄今国内出版的药物化学著作，大都是以药学院校学生为读者对象的教学参考书，主要以药物的药效类型为分类基础，介绍各类药物的药性、制备、性质和临床用途，这对药科学生学习药物化学的基础知识是非常必要的。

本书则是我在五十余年从事药物分子设计与合成研究以及二十多年来在中国协和医科大学研究生院讲授高等药物化学课程的实践基础上编写而成的，在读者已经具备药物化学基础知识的基础上，着重讨论药物化学的一般规律，从化学角度讨论药物的作用原理和分子设计。

分析药物的化学结构与生物活性间的关系，研究药物分子与生物靶标的相互作用，是药物化学的核心，因而是贯穿本书的主线。

本书从药物的化学结构出发，结合药物的物理和化学性质，重点讨论药物的生物活性与化学结构的依存关系，具体表现在以下诸方面：

(1) 从分子水平和化学结构上阐明药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄等药代动力学过程的一般规律(第 2 章)。

(2) 药物对机体作用产生药效和(或)毒理，本质上是药物分子与靶标相互作用的结果。第 3、4 章从分子水平讨论这种相互作用的物理化学基础。

(3) 讨论药物的化学结构、构型、构象和基团的变换对生物活性影响的一般规律，阐述结构-活性关系的经验性规律(第 5 章)。

(4) 药物定量构效关系的研究包括二维和三维定量构效关系方法，由于能够定量地描述药物的化学结构和药代性质与药效作用的关系，对于揭示药物作用的分子本质，指导新药设计具有重要作用，这在第 6 章作了较详细的介绍。

(5) 酶抑制剂在药物中占有突出的地位，药物化学中许多原理是由研究酶抑制剂形成的，第 7 章讨论酶抑制剂的作用特征和设计原理。

(6) 肽类化合物具有多种多样的生物活性，但因一些固有的缺点而难以直接作为药物，用有机小分子模拟肽的药效团分布，是发现和优化先导化合物重要途径，第 8 章讨论了肽模拟物的设计原理和应用。

(7) 机体内环境的非对称性，决定了对外源性物质的摄取、处置和与靶标相互作用的立体特异性要求，手性药物在药物化学和新药创制中占有特殊地位，第 9 章阐述了手性药物的作用特征。

(8) 化学治疗药物的作用对象是外源性病原体，作为选择性毒性的化疗药物，有其特殊的作用规律和要求，因而以病原体的生化和生理过程为线索，在第 10 章简要讨论这类药物的作用方式和设计原理。

(9) 药物分子设计是药物化学的主要任务之一，本书第 11 章对药物分子设计的一般原理和方法作了简要介绍，使读者对此有一系统的了解，为进一步学习和掌握设计方法与技巧作一引导。

(10) 新药研发属于周期长、投入大、风险高的技术创新领域，先导物的发现、优化和候选药物的确定是创新药物的基础，第 12 章讨论了药物分子设计的策略，旨在阐述新药研发早期规划的重要性。药理作用和成药性是新药的两个互相依存的侧面，药物分子的微观结构与宏观性质的关系，药物的分子骨架与药效团的相互依赖，药效性质、药代性质、物化性质和安全性质的和谐匹配，都反映了新药研发的这种内在关系。

编写本书的目的，力图阐述药物化学的基本原理，药物化学与相关学科和领域的衔接界面，并反映当前药物化学和分子设计的现状和发展动向，希望能对从事药物化学科研与教学、药物研究与开发的读者以及药学专业的本科生和研究生有参考价值。

然而，药物化学涉及的学科、领域、技术和方法，其深度与广度，远非我能力所及，我的有限才识不足以准确地把握药物化学的全貌，所以在某些原理的阐述、资料的取舍、内容的编排和文字的表述等方面出现的疏漏是在所难免的，敬希读者指正。

本书出版得到中国科学院科学出版基金资助，特致感谢。

最后，我愿感谢我的妻子欧阳蓉女士对本书所作的付出，是她的理解和帮助使本书稿得以完成。

著　者

于中国医学科学院药物研究所

2010 年 3 月

第 1 版 序

国内生产的药物，一向以仿制为主。随着对外开放，以及准备恢复关贸总协定的席位，我国已于 1993 年 1 月起实施药品专利法。这标志着我国的药品生产，必须逐渐转向创制自己的新药。可是，当今新药的研究与开发日趋困难，周期长，耗费巨大，这就要求药物分子设计建立在科学与合理的基础上，以求尽量节约人力财力，取得事半而功倍的效果。

药物化学这门学科虽早为人们知晓，但因过去寻找新药根据经验方法，限制了药物化学的范畴。近 30 年来，分子生物学、近代药理学、物理有机化学等学科飞跃进展，为药物化学的理论与实践提供了进一步的科学依据，并注入了新的活力，因而有可能深入地从化学上理解药物与机体的相互作用和药物呈现药理作用的分子机理，以及化学结构与生物活性关系的内涵。这样，药物化学逐渐发展为富有科学性的学科。一些规律与机理的阐明，反过来又开拓了寻找新药，特别启发了分子设计的途径。

郭宗儒研究员通过 30 余年的探索新药研究与 10 年的研究生课堂教学，不但积累了丰富的经验，也阅读了浩瀚的文献，在此基础上写成这本书。该书作为药物化学总论，注意了相关学科的衔接，特别在药物化学与药理学、生物化学和计算机应用的结合界面上，不但阐述了药物化学的一般原理，并引伸而探讨了新药设计的可行方法，内容广博，不仅为教师、研究生、业务人员提供了良好的参考书，使他们增添系统知识，而且将为新药分子设计提供理论知识，从而加速我国新药创制，因而本书对我国医药生产从仿制转轨到创制将作出有益的贡献。

稽汝运

1993 年 11 月于上海

目　　录

第 1 章　绪　　论[1~5]

1.1　药物化学的定义和范围

药物化学(medicinal chemistry)是用化学的概念和方法发现、发明和开发药物的科学，并在分子水平上研究药物的作用方式和作用机理。所谓药物，是指对失调的机体呈现有益作用的化学物质，即对疾病有预防、治疗和诊断等作用的物质。

药物化学就涉及和讨论的内容而言，可大致分成两个不同的范畴，一是关于已知药理作用并在临床应用的药物的制备方法(化学合成、生物合成、提取分离等)、分析确证、质量控制，以及研究化学结构与药理活性关系等。在这一范畴内，大都通过叙述和回顾的方式，讨论已有药物的化学与药理作用，它回答的问题是，什么是好的药物，如何得到安全有效的药物，侧重点是考察现有药物的实际应用。另一个是从化学的角度设计和创建新药，研究药物与机体相互作用的物理和化学过程，从分子水平上揭示药物的作用机理(mechanism of action)和作用方式(mode of action)。在这一范畴内，通过前瞻性研究，发现和创制新的药物分子，或称新化学实体(new chemical entity)。它所回答的问题是，如何找到安全有效的药物，以及为什么是好药，侧重点是发现新的药物。

药物化学的这两类研究范畴和内容虽然侧重点不同，却是相互联系和相辅相成的，目的是深入了解和有效利用现有的药物，预见和寻找更优良的药物。关于药物的制备、分析和应用等内容，在普通药物化学著作中已有叙述，本书着重从分子水平讨论药物作用的一般原理和规律，以及药物分子设计的策略、途径和方法。

为了发现新的生物活性分子并揭示它们的作用本质，药物化学研究处理的对象，首要的是现今临床使用的药物，因为这些药物是成功的范例和现实防治疾病的重要物质；同时也要考察某些已经过时却有重要意义的老药，以及未被药用的生物活性分子，甚至可能是有害的物质或毒物。因而本书所使用的“药物”一语，含义超出临床应用的药物范畴，医药、非药和毒药都置于“药物”这一概念之中。然而在新药研究与开发的层面上，苗头化合物、先导化合物、候选药物和药物之间则有严格的界限。通过研究具有生物活性(包括毒性)的化合物或其代谢产物的结构类型和化学特征，揭示药物与受体分子相互作用的本质以及化学结构-理化性

质-生物活性之间的依存关系，以把握作用机理和特征，深化对某(些)化合物为什么能够发展成为药物和如何获得优良药物的认识。

1.2 药物与药物化学发展的回顾

1.2.1 以天然活性物质为主的药物发现时期

药物化学的发展是与药物的创制与应用紧密相连的。数千年前，人类就应用动物、植物和矿物治疗疾病。作为一门科学，始于 19 世纪，当时称作药物学，包括现在的药物化学、药理学和药剂学等内容。随着人类社会进步和自然科学的发展，上述内容逐渐从药物学中独立出来，由粗犷性的知识分解成为彼此独立的学科，药物化学成为一门有特定研究范围的应用基础学科。

人类使用药物始自于天然产物。数千年前我国就开始使用动植物治疗疾病。例如用麻黄治疗哮喘和过敏性疾病，1887 年确定了有效成分麻黄碱的化学结构，麻黄碱(1)现已成为公认的解痉药物。19 世纪初从阿片中分离出吗啡(2)是个重要成就，吗啡具有很强的镇痛作用，虽然有严重的成瘾性，造成生理和精神性依赖性，但迄今仍是临床使用的强镇痛药。从颠茄等茄科植物分离的莨菪类生物碱，是一类解除平滑肌痉挛的抗胆碱药物，有代表性的药物是阿托品(3)，现仍在广泛应用。与阿托品结构相似的另一生物碱可卡因(4)，是从南美植物古柯中分离的，19 世纪发现可卡因有局部麻醉作用，虽至今仍作局麻药，但现在更多地被非法作为毒品。

1 2 3 4

其他植物药例如从金鸡纳树皮中分离的抗疟药奎宁，从南美马钱子科和防己科植物提取的肌肉松弛药筒箭毒碱等在药理学和药物化学发展上都有重要影响。

从 19 世纪到 20 世纪初叶，药物发展的特征是使用天然物质，往往不作化学修饰和改造而直接用于临床，这种模式主导着新药的发现研究。

伴随着化学工业的发展，一些有机化合物经药理试验证明具有生物活性，也开始用于临床治疗。乙醚和氯仿用作全身麻醉药，水杨酸和阿司匹林(5)用于解热镇痛，水合氯醛和乌拉坦用作催眠药，亚甲蓝(6)可使细胞染色，具有抗疟作用，锥虫胂胺(7)治疗梅毒等，这些都是合成药物的重要代表。

5　　6　　7

这一时期药物化学原理和理论也有所发展。20 世纪初，Ehrlich 在研究生物活性物质时首先提出了受体概念，奠定了化学治疗的理论基础，并大大推动了药理学和药物化学的发展。Langmuir 提出了电子等排概念，归纳出化合物结构与物理化学性质的关系，并为生物电子等排原理奠定了基础；Crum-Brown 和 Fraser 试图用数学表达式反映一组化合物的生物活性与物化性质的关系，可认为是定量构效关系的启蒙研究。

1.2.2　以合成药物为主的药物发展时期

20 世纪初叶到 50 年代，有机化学和生理学有较大的发展，有机合成技术和生物学方法的成就为合成药物的创制提供了有力的手段，在这一时期发明了许多新药，可认为是新药研发的黄金时期。

德国 Domagk 发现红色染料百浪多息(prontosil，8)可治愈细菌感染的小鼠，并证明百浪多息在体外没有抑菌作用。后来发现是由于肝脏中酶的还原裂解作用使其生成磺胺而奏效，从而开辟了化学治疗的新纪元，由此研制多种强效的磺胺药物(9)。Fleming 发现青霉素(penicillin，10)虽是偶然发现，却开拓了抗生素药物的新领域，偶然寓于必然之中。青霉素的发现有效地控制了细菌感染性疾病，还相继发现了诸如链霉素、四环素、头孢菌素、大环内酯、氨基糖苷等各种抗菌和抗癌抗生素。半合成抗生素是以发酵方法制造的抗生素为原料，经化学合成和结构改造得到的效用更强的抗生素。

8　　9　　10

甾体激素是具有调节机体生长、发育和维持性征的内源性物质，通过对这些体内微量物质的结构解析和结构-活性关系的研究，创制出氢化可的松、睾酮、雌二醇、黄体酮等合成的激素及其类似物。

蛋白质化学和酶动力学的发展，促进了作为药物的酶抑制剂的研制，例如研究二氢叶酸还原酶的催化作用和各种同工酶抑制剂，创制了抗肿瘤药甲氨蝶呤

(11)，抗疟药乙胺嘧啶(12)，磺胺增效剂甲氧苄啶(13)等。

11　　12　　13

对氨基水杨酸钠、雷米封和链霉素等抗结核药物的问世，使一向认为是不治之症的结核病不再威胁人类生命，从而一度全球性地控制了结核病。但是近年来由于环境和营养问题，以及药物滥用等造成对已有抗结核药物的耐药性，导致结核病在世界范围卷土重来。

各种抗感染药物的发现和应用，使得细菌感染性疾病在很大程度上得到了控制。人们强烈感到恶性肿瘤疾病对健康和死亡的威胁。恶性肿瘤是由于环境或遗传因素引起组织细胞无控制地增殖，根源是遗传信息 DNA 分子发生突变并继续复制所致。在寻找抗肿瘤药物的过程中，人们忆起在第二次世界大战中使用化学战剂芥子气所引起的细胞毒作用，可能成为杀伤肿瘤组织的手段，从而创制出氮芥类生物烷化剂，例如美法仑、噻替派和环磷酰胺等。

研究核苷和核苷酸的生物合成，了解酶在核苷酸合成中的作用，在药物化学上确立了抗代谢原理，研制出氟尿嘧啶等抗肿瘤药物。

1.2.3　药物分子设计时期

随着人们对药物的安全性和有效性要求的提高，杜绝 20 世纪 60 年代发生的“反应停事件”的悲剧[系因沙利度胺(14)对胎儿的致畸作用]，各国卫生部门制定法规，对药物的安全性试验作出了严格的规定，试验的周期长，项目多，增加了新药创制的难度。为了提高新药研究的成功率，减少盲目性，需要将创制过程建立在科学和合理的基础上，这就是药物分子设计。药物分子设计是基于理性的策略和科学的规划，构建具有预期药理活性的化学实体的分子操作，确保构建的药物分子具有安全性、有效性、稳定性和质量可控性等属性。

14

这个时期药物化学的划时代发展是定量构效关系方法的建立。20 世纪 60 年代 Hansch 和藤田稔夫用物理有机化学的 Hammett 方程处理化合物的生物活性与

基团物理化学性质变化的规律，在手段上使用计算机进行研究。该方法是用数学方程描述系列化合物的化学结构与药理活性之间的量变关系，不仅有助于解析药物发挥药效的作用方式和机理，而且可预测未知化合物的活性。应用该方法使许多制药公司提高了新药研制效率，例如对喹诺酮类抗感染药物用 Hansch-藤田方法成功地研制出新一代的抗菌药物。

计算机的应用不仅使统计学计算加快了速度和提高了精度，而且计算化学(包括分子力学、分子动力学和量子化学)可以精确地进行分子的能量优化，确定最低能量构象，计算分子中各个原子的电性分布，分子的表面特征以及研究药物分子与受体分子的相互作用等。分子模拟技术大大深化了人们对分子的微观行为的认识，包括药物小分子和生物大分子的结构以及它们之间相互作用的特征等，从而能够在更精细的原子和基团水平上设计新分子，并预测生物活性。

结构生物学的研究提供了大量的蛋白质和酶分子的三维结构，形成了蛋白质晶体数据库，为研究药物分子与受体蛋白相互作用的本质提供了有用的结构参数，并且是基于受体结构的分子设计的重要数据源。例如，人免疫缺陷病毒(HIV)是感染艾滋病的病原体，该病毒的蛋白水解酶是病毒复制和生长的重要酶系。用 X 射线单晶衍射法确定了该酶为二聚体，并解析出酶在水解蛋白底物时，催化中心各个原子和基团的作用，以及水分子所处的位置，从而以该酶的晶体结构为基础，进行全新分子设计(*de novo* design)。抗艾滋病药物 HIV 蛋白酶抑制剂利托那韦(15)是在计算机辅助设计的基础上，利用药物化学的过渡态类似物原理设计出来的，事实上，许多“那韦”类药物都是模拟蛋白酶水解肽键的过渡态合成的类似物。

S N CH3 N H N O O N H OH H N O O N S

15

基于片段的分子设计(fragment-based drug design)是基于生物物理的筛选方法如 X 射线晶体学或 NMR 技术，分析靶标与相对分子质量较低的化合物的结合特征，经计算机分子模拟和体外活性测定，逐步加入基团或片段，获得高活性的先导化合物的设计方法，其效率和产生的苗头物或先导物质量往往优于高通量筛选(high- throughput screening，HTS)的方法。

从内源性配体结构出发设计药物是20世纪后半叶药物发展的另一特征，例如基于组胺可引起胃酸的分泌的生理特征，按照药物化学原理研制出一类抑制胃酸和胃液分泌的“替丁”类抗消化道溃疡药物。西咪替丁(16)是第一个上市药物，以后发现替丁类药物是组胺H2受体阻断剂。研究胃壁细胞中H^+/K^+ATP酶的功能，证明是催化胃酸分泌的总枢纽，称为质子泵，研究H^+/K^+ATP酶抑制剂，发现了作用更强的“拉唑”类抗溃疡药物，例如奥美拉唑(17)。血管紧张素转化酶是调节血管收缩、影响血压变化的重要酶系，根据内切酶的作用特征，设计出血管紧张素转化酶抑制剂，例如卡托普利和依那普利(18)等。

16　　17　　18

蛋白激酶在肿瘤的生成过程中起关键性调控作用，涉及细胞生长、分化、浸润、血管生成和转移等环节。人体至少有500种不同的激酶，开始时人们普遍认为，蛋白激酶未必是药物的优良靶标，因为细胞内有高浓度的ATP，而且激酶催化的机理是相同的，其活性中心的结构是相似的，因而在众多催化磷酸化过程的激酶中，寻找作用位点特异的酶系会是困难的。但Abl激酶抑制剂伊马替尼(19，imatinib)的上市，临床治疗慢性髓性白血病和胃肠道间质细胞瘤，说明精确的分子设计可以提高选择性抑制活性。以后又相继研发成功表皮生长因子受体激酶的抑制剂埃罗替尼(20，erlotinib)和吉非替尼(21，gefitinib)等，都是基于激酶与ATP结合位点的特征而设计的。

19　　20　　21

花生四烯酸在体内代谢有多种途径，可生成前列腺素、白三烯和血栓素等。这些内源性物质具有很强的生理作用，它们在体内处于平衡状态，维持正常的生理功能，平衡失调会引起多种疾病。通过研究这些物质的生物合成过程和酶的催化机理，以及这些物质对受体的作用，研制出多种药物。例如选择性抑制炎症细胞内高表达的环氧合酶-2的药物塞来昔布(22，celecoxib)，与传统的非甾体抗炎药不同，避免或降低了对胃肠道刺激作用。但是对环氧合酶-2选择性更强的罗非昔

布(23，rofecoxib)，却在长期和大剂量服用下会引起血栓性疾病，上市数年后被迫撤销，并因此导致曾对环氧合酶-2这一靶标提出了质疑。

肽模拟物是药物化学和创制新药的重要研究领域。内源性多肽的结构与功能的解析为新药的研制开辟了新的途径，它们的受体或催化的酶系，是研制药物的靶标。然而，作为配体的肽类分子是柔性化合物并具有多种生理功能，不能直接作为药物应用。因此，基于作用机理或结合特征，设计拟肽、伪肽乃至有机小分子化合物，是药物化学的活跃领域。血管紧张素II受体拮抗剂氯沙坦(24，losartan)等“沙坦”类药物，是通过阻断血管紧张素受体途径而降低血压的重要降压药物。

22　　　　23　　　　24

由固相多肽合成方法发展起来的组合化学，在创制新药的策略上引起了重大变革。与组合化学相匹配的筛选方法也有了相应的发展。例如高通量筛选方法(HTS)，所用的酶或受体蛋白可经分子生物学方法制备。此外，化合物对细胞的活性也可实现高通量评价。这种组合化学与高通量筛选相匹配，可发现先导化合物，也可以优化先导物。然而，20余年的实践表明，高容量的随机库的合成与活性评价，投入与产出的苗头物相比，效率很低。因而转为合成定向库或目标库或动态组合库，以及基于受体结构设计的虚拟库等，经分子对接(docking)和虚拟筛选(virtual screening)，发现苗头物和先导物。

分子生物学的发展还为新药研究提供了新的策略和目标。功能基因组学和蛋白质组学的研究以及与疾病相关的重要基因的解析，为研究新药提供了日益增多的靶标和生物学信息。生物信息学(bioinformatics)是一门新兴的交叉学科，它是应用信息科学、计算机科学、计算生物学和比较生物学等学科的观念和方法对生命及其组成分子(如核酸和蛋白质等)进行研究的学科，以计算机和电子设备为工具，以互联网为平台，对生物信息进行提取、存储、加工和分析，用信息理论与技术以及生物数学的方法解析和阐述生物大分子的存在和价值，最终达到应用的目的。

生物信息学的研究对认识生命的起源、遗传、发育和进化的本质有重要意义，并为人类疾病的诊断、预防和治疗开辟了新的途径，还为创制新药提供新的靶标，也为药物分子设计提供理论基础。当今生物信息学的任务主要集中在数据的整合和表达、数据多样性分析、相互交叉分布数据的总结与分析、基因组与蛋白质组

的结构与功能的研究等，所有这些都会促进药物新靶标的发现和确定。应当指出，从发现的众多新靶标中确证(validation)药物靶标是项艰巨任务。

与生物信息学相应发展的另一重要内容是化学信息学(chemoinformatics)，是为创制新药和药物研究而发展的新型学科。化学信息学是从各种化学信息源中提取有用的数据，建立多种数据库管理系统和数据库，通过数据归纳、推理和分类等方法将数据转化成信息，再由信息转化成知识，并对知识实施有效的管理。所有这些，目的是加速药物先导化合物的发现和优化。化学信息学、分子模拟和计算机辅助分子设计的整合，出现了计算试验(*in silico*)的研究方法，可认为是离体试验(*in vitro*)和在体试验(*in vivo*)的延伸和补充(图 1-1)，*in silico* 方法可用于数据描述、数据分析、模型建立和分子设计，预测化合物的生物活性、物理化学性质以及药代动力学等，提高了新药研究的效率。



图 1-1　计算试验、离体试验和在体试验的关系

晚近发展的化学生物学(chemical biology)是为了确定基因和蛋白质的生物功能而发展起来的化学与生物的交叉学科，涉及了生物大分子、生物分子作用机制、新一代治疗方法、生物催化和生物转化、组合化学、超分子化学、生物有机和生物无机、生物检测新方法等当代化学和生物学交叉的前沿课题。化学基因组学(chemogenomics)是化学生物学组成部分，是通过研究天然或合成的小分子化合物对未知生物功能的蛋白相互作用，来确定细胞内蛋白质的功能。化学基因组学犹如一个引擎，可通过正向和反向的不同操作，实现对基因和蛋白功能的解析，并产生作用于靶标的探针或先导物。所谓正向法，是首先分离出对某细胞或生物体的表型(phenotype)有特定活性的小分子化合物，通过基于亲和基质纯化技术或噬菌体展示技术，确定该化合物的作用靶标。反向法是从靶蛋白或基因出发，通过对化合物库的高通量筛选，或基于蛋白结构的分子设计，发现新的类药化合物或探针分子，这些分子能够结合或干扰由正向过程鉴定的纯靶标的功能。化学生物学对靶标的发现与确证以及新药的发现与设计有重要作用。

继高通量筛选(HTS)之后，在 20 世纪 90 年代中期发展了高内涵筛选(high-content screening，HCS)，是在细胞水平上，用荧光显微技术和定量图像分析方法相结合的自动化技术平台。通过分析固定在微孔板上的细胞的变化，例如在一个细胞中的磷酸化、蛋白易位和丰度变化、细胞核中染色质的变化，经图像分析软件作实时定量分析。在新药的临床前研究中，该方法根据药物对细胞和细胞核的大小、形状和染色深度以及成分的变化，判断药物对细胞的作用和潜在毒性。高

内涵筛选的另一个优点是可以建立各种检测指标，例如根据蛋白的丰度确定基因的表达状态，蛋白质的定位，根据转录因子的易位推定蛋白激活的途径，G-蛋白偶联受体(GPCR)的激活，以及信号转导等。所以，高内涵筛选已成为新药创制中临床前研究的重要辅助手段。

药物化学作为应用基础学科，不断地对基础学科提出新的要求和课题；基础学科的发展又在理论、策略和方法上丰富了药物化学内容，使新药研制在深度和广度上发生了巨大的变革。回顾和总结 100 年来药物发展的历程和相应学科与领域的关系，可用图 1-2 加以概括。

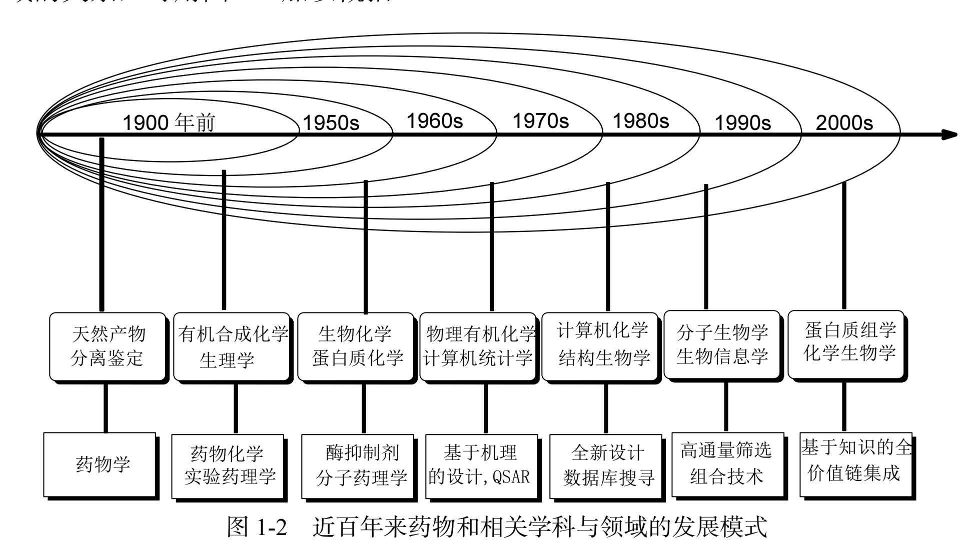


图 1-2　近百年来药物和相关学科与领域的发展模式

图 1-2 简略地区分了不同的年代与药物发展相关的学科、领域和技术，勾画出大致的发展趋势。应当指处，在年代之间并非互相割裂和不可逾越的，也不是在策略和方法上后者取代前者，而是相互容纳和补充。例如从自然界发现天然产物和研制新药，虽然历史久远，现今仍非常活跃，是重要的药物研发资源。计算机辅助分子设计不能代替天然来源的途径，因为设计的化合物都是人脑构想出来的，难以摆脱已有的化学结构的模式或框架。而自然界提供的天然产物，常常具有未预料到的结构新颖性和活性特异性，例如抗疟药青蒿素，抗癌药紫杉醇和降胆固醇药洛伐他汀等都是非常有价值的药物和先导物。药物化学仍然是以实验为基础的应用基础研究学科，传统的药物化学总结了许多原理与规则，药物化学家积累的经验和技巧，在新药研中发仍起主导作用，以药物化学和药理学为核心的基于知识的全价值链集成技术，是当今研究与开发新药的主流。

1.3　药物化学与其他学科的关系

药物化学同化学与生物学的各个分支有密切的联系，近年来计算机科学和信息学也渗透到药物化学学科中，导致药物化学融会和整合了多种学科的技术和方法。

1.3.1　化学是构建和表征药物分子的主要手段

药物大多是有机化合物，研究的手段和方法受有机化学理论和原理的影响很大。例如蒋明谦先生编著的《高等药物化学》，以有机化学的结构理论和特征讨论药物化学，反映了 20 世纪 50 年代药物化学与有机化学的密切关系。时至今日，有机化学结构理论、反应机理和有机合成等仍在构建与合成药物分子和解释作用机理等方面起主导作用。

固相合成和组合平行合成方法构建化合物库的策略和方法，特别是有机小分子组建模块(building block)的合成和反应性能的研究，在很大程度上提高了化合物的合成效率。

物理有机化学、计算化学(如分子力学、分子动力学和量子化学等)对表征药物分子的结构特征，研究药物与生物大分子之间的相互作用以及药物分子设计等起到重要的作用。有机分析化学特别是仪器分析的发展，对药物化学和新药研究有密切关系，SAR by NMR 和 SAR by MS 技术是用二维核磁共振或质谱方法研究靶标蛋白与有机小分子的相互作用，成为基于片段的分子设计的重要手段。

1.3.2　生物学在多层面上改变并丰富了药物化学的内容

分子生物学的成就，基因组学、蛋白质组学、基因克隆技术等，对发现与疾病相关的基因及其表达产物的结构与功能研究起很大作用，已经成为创制新药的作用靶点的源泉。基因治疗和反义寡核苷酸是新药研制的重要领域，单克隆抗体作为新型药物或药物的载体，是分子生物学在药物研究中的具体应用。克隆技术制备受体和酶蛋白不仅为高通量筛选和药物的活性评价提供了物质基础，而且可以制备纯净和足够量的靶蛋白酶，成为结构生物学研究的物质基础。

结构生物学是研究具有生物活性的大分子结构与功能的新兴领域，常常用 X 射线晶体学或二维核磁共振技术研究蛋白质的精细结构，成为揭示核酸、蛋白质的结构与功能，药物与受体相互作用和药物分子设计等重要依据。

1.3.2.1 药理学

药物化学与药理学的各个分支有密切的关系。分子药理学是研究药物与靶标间相互作用的生物化学和生物物理过程，从分子水平上解析药物与靶标部位的相互作用，通过药物与靶标受体、酶、核酸等的化学或物理化学反应，揭示药物产生效应(活性与毒性)的微观过程，以把握受体部位的理化环境和拓扑结构以及与药物作用的本质。

细胞药理学是在细胞水平上揭示药物的作用，例如对于细胞膜的作用，反映出膜受体与药物的作用；进入细胞浆的药物常常涉及对细胞内酶和细胞器的作用；对细胞核的作用包括抗癌药物、反义寡核苷酸和基因药物的作用，也有通过核受体的作用揭示与细胞生长、分化和发育有关的激素样作用。前已述及的高内涵筛选，也是在细胞水平上测定药物对细胞形态和成分的影响，在药物研究与开发前期有重要价值。

系统药理学研究药物对整体系统的作用，包括离体器官(心、肾、动脉等)和整体动物。药物对整体动物模型的实验在一定意义上可认为是个生物学平台技术，在评价药效学的同时，也在一定程度上反映了药物的吸收和药代动力学性质，以及药物的不良反应等，这种具有整合性的实验结果对临床研究有重要的参考价值，因而近年来人们又认识到整体动物实验的重要性。当然，动物模型与人体疾病的相关性对预示治疗效果是非常重要的。

临床药理学是研究新药对正常人群和患者的疗效和不良反应的学科，是临床研究的基础和前提。临床研究共分四期：I 期临床研究是关于药代动力学、耐受性和剂量范围的确定，II~IV 期研究对患者的疗效和安全性进行全面评价。

1.3.2.2 药代动力学

药代动力学(pharmacodynamics)是研究药物在体对内吸收(absorption)、分布(distribution)、代谢(metabolism)和排泄(excretion)过程与时间的关系，通过测定动物或人体在不同时间的血浆药物量，可以推导出药代动力学参数，从而预测药物对人体的作用以及体内过程。药代动力学作为药理学的分支，对药物化学和分子设计的影响日益重要，在新药研究前期，评价化合物的药代动力学性质，已经成为分子设计的重要内容。了解药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程，不仅可以指导医生合理用药，而且有助于解析化学结构与药代动力学关系。

1.3.2.3 毒理学

毒理学(toxicology)是用体外或体内实验模型评价药物的安全性，在候选药物

进行临床前研究中，通过急性、长期毒性以及特殊毒性(致突变、致畸、致癌、生殖毒性以及心脏毒性等)试验，预示药物可能存在的不良反应。毒理学还为设计安全有效药物分子提供生物学信息，由于化合物结构中的某些基团或片段或特定的结构与呈现毒性的关系，优化先导物结构应避免或消除细胞毒性作用，以及用hERG 受体评价化合物潜在的心脏毒性。

1.3.2.4 生物化学和微生物学

蛋白质和核酸化学、酶动力学和物质与能量代谢，是研究药物对蛋白质和核酸等受体的作用和机理的基础；研究受体蛋白和酶活性中心的结构，与配体或底物(或抑制剂)的结合特征，是基于受体结构设计药物分子的依据。

微生物产生次级代谢产物，构成天然活性产物的重要来源，熟知的抗菌和抗癌抗生素，是药物化学讨论的重要组成部分。用分子生物学技术在细菌或真菌中克隆表达基因产物和其他生物活性分子，已经成为新药研究与开发的新领域，并已经形成产业化。微生物药物是药学领域中的重要分支。利用微生物参与生物合成和生物催化是发现先导化合物的新途径，组合生物合成(combinatorial bio-synthesis)和组合生物催化(combinatorial bio-catalysis)是制备非天然的天然活性物质的重要手段。用微生物表达和制备酶蛋白或受体蛋白，是结构生物学、分子药理学和药物筛选的物质保证。

1.3.2.5 计算机科学与信息科学

计算机科学在药物化学中有多方面的应用，通过构建各种数据库和相应支撑软件，可解析复杂化合物的化学结构，设计化合物的合成途径，分析二维和三维结构与活性的关系，进行药物分子设计等。网络时代又在全球范围上使软件工具和信息资源得以共享和整合，例如，蛋白质晶体数据库，小分子化学库和生物学数据库，二维化学结构转换成三维结构的软件系统，合成反应的信息管理软件和数据库，以及其他智能性计算软件等，已成为新药研究、分子设计和研究药物与受体相互作用必不可少的辅助手段。计算机辅助药物研究(computer-aided drug research，CADR)涵盖并应用了上述各种方法。

1.4 本书的内容

本书旨在讨论药物化学的一般原理和某些最新进展，以药物的化学结构和生物活性的关系作为主线脉络，讨论影响药物的物理化学性质、活性、毒性和药代的化学结构因素。药物与机体之间的关系包括两个方面：机体对药物的作用或处

置，即药物的药代动力学(吸收、分布、生物转化、排泄等)性质；药物对机体的作用与影响，即药物的药效学和毒理学性质。这是相互联系而又有区别的两个侧面，药效和药代性质都“凝集”在药物分子的化学结构里。虽然机体的状态(如性别、年龄、营养状况、疾病状态等)对药效(pharmacodynamics，PD)和药代(pharmacokinetics，PK)过程有重要影响，但在本书中，主要讨论化学结构与 PD 和 PK 的关系。在讨论药物作用的分子基础时，重点放在药物化学与分子药理学的结合点上，而以药物化学结构这一侧面为主。药物产生药效在于药物分子与受体相互作用的结果，体现在化学与物理化学的作用上，因而本书将讨论药物作用的理化基础。酶抑制剂作为药物，研究得比较深入，拟对酶的各种抑制剂的作用原理加以讨论。药物的化学结构与生物活性的关系，包括定性、定量、二维、三维相互关系，是药物化学的重要内容，本书将分别加以详细讨论。为了帮助读者了解药物分子设计，本书对药物化学中常见的方法及其原理加以讨论，其中包括组合技术和肽模拟物等近 20 年来发展较快的领域。手性药物的结构和作用特点，对药效与药代的影响是药物化学与药理学的重要课题，本书亦将作讨论。化疗药物的研究与设计基础，是病原体的生理和生物化学过程以及同宿主的关系，作为选择性毒性药物，化疗药物有其特殊的要求，因而对这一领域作简要叙述。最后一章讨论药物分子设计的策略，使读者在掌握了药物化学和分子设计方法的基础上建立正确的设计理念和策略，深化理解药物的内涵，指导新药的研究。

最后，本书作为药物化学纲要，只叙述药物化学的普遍原理和方法，不可能涉及药物化学的全部内容，对药物的各论内容均予省略。所列举的实例，只是为了说明某种原理或某个过程。

参 考 文 献

[1] Wolff M E. Burger’s medicinal chemistry and drug discovery. Volume I: Principles and Practice. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 1995

[2] Wermuth C G. The practice of medicinal chemistry. 2nd ed. London: Academic Press, 2003

[3] Hansch C, Sammes P G, Taylor J B. Comprehensive medicinal chemistry. The rational design, mechanistic study & therapeutic applications of chemical compounds. Volume 4. Quantitative Drug Design. Oxford: Pergamon Press, 1990

[4] Hardman J G, Limbird L E, Gilman A G. The pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001

[5] Haney S A, LaPan P, Jing P, et al. High-content screening moves to the front of the line. Drug Disc Today, 2006, 11: 889-894

第 2 章　药物的化学结构与药代动力学

2.1　药物的宏观性质和微观结构

药物进入人体后，与机体发生复杂的相互作用。概括地讲，一是机体对药物的作用，另一是药物对机体的作用。机体对药物的作用是进行物理的和化学的处置，是药代动力学研究的内容；药物对机体的作用是药效学和毒理学讨论的对象。药代动力学和药效学都属于药理学学科范围。

机体可认为是一个复杂的“生物化学实体”，对药物的处置可有多种作用：在时间和空间上对不同的药物有不同的处置方式，在物理形态和化学结构上也采取不同的处置方法。结果是药物分子或其代谢产物在时间和空间的特征(体内排出和存留的时间以及分布状况)上有不同的表现，发生不同的物理或化学变化，导致药物或其代谢产物在机体内的不同分布和持续时间。

一般地讲，机体是个比较稳定的系统，在长期的进化过程中，面对复杂多样的内源性(endogenic)和外源性(xenogenic)物质，形成了具有一定规律的处置方式，反映在药物吸收、分布、代谢(部分地)和排泄(ADME)上遵循某些共同的规律，概括地讲，就是机体对待药物等外源性物质大体上是以整体分子和宏观性质为根据的，对它们的处置一般不拘泥于分子的细微结构。分子的宏观性质即物理化学性质，包括分子尺寸(可用相对分子质量表征)，溶解性，亲脂性(分配性)，电性(电荷、极性、氢键等)，极性表面积等，这些在很大程度上决定了药代动力学[1]。

相反，药物对机体的作用所产生的生理效应，会因为药物分子的化学结构的不同，甚至是微小的变化，可引起不同的生物活性，这是因为药物对机体的作用，无论是有益的(药理作用)或不利的作用(不良反应)，本质上是药物与靶标(target)和非靶标(off-target)分子之间发生相互作用，是某些特定的原子、基团或片段的互补性结合，而并非组成分子的所有原子起作用，这些原子、基团或片段的集合，体现了特异性的结合并引发特定的生理作用。所以，药物对机体的作用是由特定的原子或基团即微观结构决定的。

药物的化学结构与药代动力学过程的关系，往往遵循一定的规律，正如 Ariens 指出的，“为改变药代动力学性质而进行的分子改造，具有很大的自由度，药物的分布主要取决于化合物的整体性质，如分配系数和极性等，而药物和受体的相互作用，通常需要有特定的立体特征和电荷分布”[2]。

从分子结构的视角看，药物的宏观性质和微观结构、物理化学性质、药代动力学性质、药效学性质乃至毒副作用都是由化学结构决定的，诸多属性都“凝集”在化学结构之中。人们希冀药物具有良好的物化性质，有较高的药效作用强度和特异性，有合理的药代行为，以及尽可能低的不良反应，但“此事古难全”，因为人们在实现上述的意愿进行结构优化时，常常为改善某种性质而对另一种性质产生无益或不利的影响，因而有时需要作某种程度的通融或割舍，否则会付出沉重代价的。例如，根据统计，在进行临床研究的候选化合物中，大约有 40%的受试化合物由于不适宜的药代性质(如吸收不完全，代谢太快或代谢广泛，或分布不合理等)而被迫终止试验。可见药代动力学性质的重要性，研究药物的化学结构与药代动力学性质的关系，是非常必要的。

2.2　药物在体内的过程

药物在体内经历的过程非常复杂，通常分成为三个时相，即药剂相(pharmaceutical phase)、药代动力相(pharmacokinetic phase)和药效相(pharmacodynamic phase)，这是三个相继发生和互相影响的过程。图 2-1 是药物在体内过程的模式图[3]。

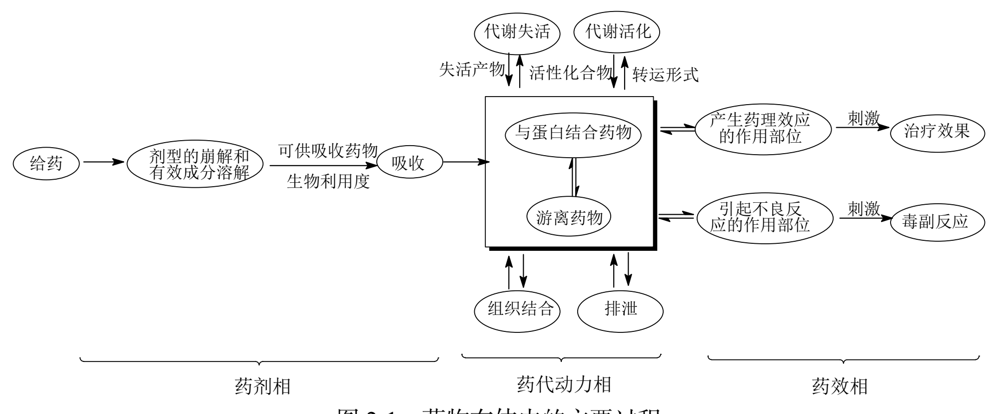


图 2-1　药物在体内的主要过程

2.2.1　药剂相

药剂相是药物在体内的初始过程，这个时相决定用药的效率。药物进入体内后，经历剂型的崩解和分散以及有效成分的溶解，成为便于吸收的高度分散状态，以利于机体的吸收。因此选定恰当的药物剂型和适宜的给药途径，以及恰当的赋形剂和良好的制剂质量，是药剂相的决定性因素。药物的理化性质对制剂的质量

有重要影响。根据药物的理化性质和给药途径所设计的剂型，应保障成为容易被吸收状态，并且在吸收前具有良好的化学稳定性。同一种药物剂型，由于改变赋形剂或制剂工艺，精制原料药用的溶剂的改变所导致晶型的不同，以及粒径的不同，都会影响药物分散和吸收性，造成生物等效性(bio-equivalence)的差异，影响药物的吸收。

2.2.2 药代动力相

药代动力相包括药物吸收入血液循环、向各组织和器官的分布、与血浆蛋白或体内成分的结合、代谢(即生物转化)以及排泄等过程。药代动力学是研究药物在体内吸收(absorption)、分布(distribution)、代谢(metabolism)和排泄(excretion)等过程(ADME)与时间关系的科学。

经非静脉途径给机体一定剂量的药物，吸收入血液中的药量和速率是药物的固有特征，即生物利用度(bioavailability)，它是表征药物被机体摄取的效率。药物在体液中分布的浓度，同血浆蛋白的结合程度，在各组织和器官中的储积，发生代谢转化量和速率，代谢产物的生物学性质(活化和失活)，排泄的途径、方式和速率等，构成了机体在时间和空间上对药物处置的画面。药物的化学结构决定以上 ADME 的各个环节。机体对各种各样的外来物质的处置，本质上是要清除于体外，因而对药物的处置方式所表现出来的药代动力学具有共性和普遍性。表征药物吸收分布代谢排泄和药代动力学的性质，常用药代动力学参数，将于本章第 3 节讨论。

2.2.3 药效相

药效相涉及药物对机体的作用，关注药效是研究药物的切入点和用药目的之所在，常常更为药物化学家和药理学家所关注和感兴趣。这一时相是药物在作用部位与生物靶标发生相互作用，通过放大作用(例如第二信号系统)、级联反应(cascade reaction)或直接引发生物化学或生物物理变化，导致人们宏观上可以观测的效应。药物与疾病相关的靶标发生作用，产生所希望的效应，获得治疗效果；若作用于正常组织或不希望的靶标(off-target)，则是不希望发生的，也就是不良反应。

从药物化学和分子设计的观点考察上述三个时相，目标是以最大限度地获得良好的物化性质、适宜的药代动力学行为、特异性药效和尽可能低的不良反应，药物的化学结构是上述性质的基础。然而，这三个时相属于不同的学科范畴，研究处理的内容和解决的方式也是不同的。例如药剂学家研究不同的赋形剂和分散剂，制备新的剂型(各种控释和缓释等给药系统)，以调整药物的作用时间和分布；药物化学和药理学家从分子水平研究化合物与靶标的作用本质，考察化合物的结

构变化对活性的影响，以优化药效学性质，为此，常常通过离体(*in vitro*)和在体(*in vivo*)实验进行活性评价。作为中间阶段的药代动力相在往昔的新药设计中，往往呈被动接受的状态，药物化学家过去较少主动地调整化合物的结构和性质来优化药代动力学性质，因而忽略了在呈现药效之前，机体对药物的处置是否得当。现今在分子设计的早期，即在体外评价药效学性质同时，也考虑化合物的药代动力学性质，例如通过测定化合物的溶解性、pK_a和分配性，用理论计算的方法预测，或用离体方法测定药物穿越生物膜的能力，是否被肝微粒体或细胞色素 P450 代谢等，以初步评价化合物的药代性质。研究药物的化学结构与药代动力学的关系，是药物化学的重要内容之一。

2.3　药代动力学及其参数

药代动力学是研究药物在体内的时间过程，是用动力学原理和方法表征药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄等过程的速率变化的科学，可用多种参数定量地表述和预测这些过程。经典研究药代动力学用的样本是血液，这也是不得已的办法，因为现今的科学技术水平尚不能测定组织细胞中的药量或浓度。人体血液容易得到，而且血液中的药物浓度与体内组织或器官中的浓度大体呈动态平衡，所以各种参数通常是测定血液中的药物浓度推导出来的，提示药物在体内吸收、分布、代谢和排泄与时间的关系。

药代动力学作为一门学科，本书不可能作详细讨论，但是为了便于后面的叙述，拟简要讨论某些参数。

药物经静脉注射到血液后，即向组织中分布和清除，有三个非常重要的药代动力学参数，即表观分布容积、清除率和半衰期。

2.3.1　表观分布容积

表观分布容积(apparent volume of distribution，V_d)是个理论概念，表示给药剂量与血液中药物初始浓度(C_0)的关系，用式(2-1)表示，单位是 L/kg。

$$V_d = 剂量/ C_0 \tag{2-1}$$

若药物只存留在血液中，血液的容积为 80 mL/kg，则其表观分布容积为 0.08 L/kg；若完全分布在全部体液中，体液的容积为 800mL/kg，则表观分布容积为 0.8 L/kg。在这两个数值之外只有数学意义。例如分布容积为 2 L/kg 时，表示只有 5%的药物存在于血液循环中。不同的药物表观分布容积值不同，大体在 0.04 ~ 20 L/kg 或更高。具有高相对分子质量的染料如吲哚花青素(indocyanine green)静脉注射后

停留于血液中，表观分布容积为 0.04 L/kg，可用于测定血容量和肝血流量。而氯离子或溴离子则迅速分布于全身体液中，但不能穿越细胞膜，分布容积为 0.4 L/kg，等于细胞外的体液容积。解热镇痛药安替比林(antipyrine)为中性亲脂性分子，可迅速分布于细胞内液和细胞间液中，其分布容积为 0.7 L/kg，可作为体液总体积的标示物。若化合物结合于组织蛋白能力超过与血浆蛋白的结合，则其表观分布容积远远大于体液的容积，因为分布容积取决于血浆中游离药物与组织内药物量的比值。碱性药物通常与组织有较高的亲和力，例如钙通道拮抗剂氨氯地平(amlodipine)表观分布容积甚至超过 20 L/kg。表观分布容积大的药物，一般在体内存留较长的时间，清除较慢。

2.3.2 清除率

药物的清除系指从血液抽取到清除器官的过程，抽取率(extraction，E)是药物被排泄器官排泄或被转化为代谢产物的比例，药物的清除率(clearance，Cl)是流经清除器官的血流量(Q)与抽取率的乘积(式 2-2)。

$$Cl = Q \times E \tag{2-2}$$

清除的器官主要为肝脏和肾脏，也有其他的消除途径。肝清除率($Cl_{肝}$)包括代谢转化和胆汁排泄，肾清除率($Cl_{肾}$)为肾脏排泄。所以药物的总清除率 $Cl_{总}=Cl_{肝}+Cl_{肾}+Cl_{T其他}$。清除率的单位为 mL/min 或 mL/(min · kg)，意义是单位时间内药物被清除时的血液体积。人、犬和大鼠的肝脏血流量分别为 25、50 和 100 mL/(min · kg)，如果血清除率接近该数值时，表明肝脏代谢非常迅速。

药物在体内的存留时间与清除率和药物在循环血液中的实际药量有关，而在血循环中的药量与分布容积有关，所以，消除速率常数($k_{消除}$)与清除率和表观分布容积的关系呈式(2-3)的关系。消除速率常数的单位是 h^{-1}。$k_{消除}= 0.1\ h^{-1}$ 意味着每小时有 10%的药物被清除。

$$k_{消除}= Cl/ V_d \tag{2-3}$$

2.3.3 半衰期

半衰期(half life)是指体内的药物浓度或药量降低 50%所需的时间，用以表征药物在体内经代谢转化或排泄而消除的速率，符号用 $t_{1/2}$ 表示，单位是 min 或 h。半衰期与消除速率常数有如下关系：

$$t_{1/2} = \ln2/ k_{消除} \tag{2-4}$$

半衰期的长短决定了药物在体内存留时间，用来指导给药的频度。为了维持最低有效浓度，给药的间隔大致是药物的半衰期，一日一次的药物半衰期需要为 24 h，此时药物在血浆中的峰浓度与谷浓度之比大约为 2 倍。药物具有不同的半衰期可能是由于清除率的变化，也可能是分布容积的变化。

2.3.4　曲线下面积

血浆中药物浓度与时间作图，得出的药-时曲线下面积(area under concentration-time curve，*AUC*)是药代动力学的另一个重要参数。通过某种途径给药后，定时取血测定血液中的药物浓度，得出血药浓度随时间变化的曲线，该曲线反映了血药浓度的动态变化，由此可得到三个参数：曲线下面积，表征了该时程内的药量；药物峰浓度(C_{max})和达峰时间(t_{max})。图 2-2 为药-时曲线示意图[4]。

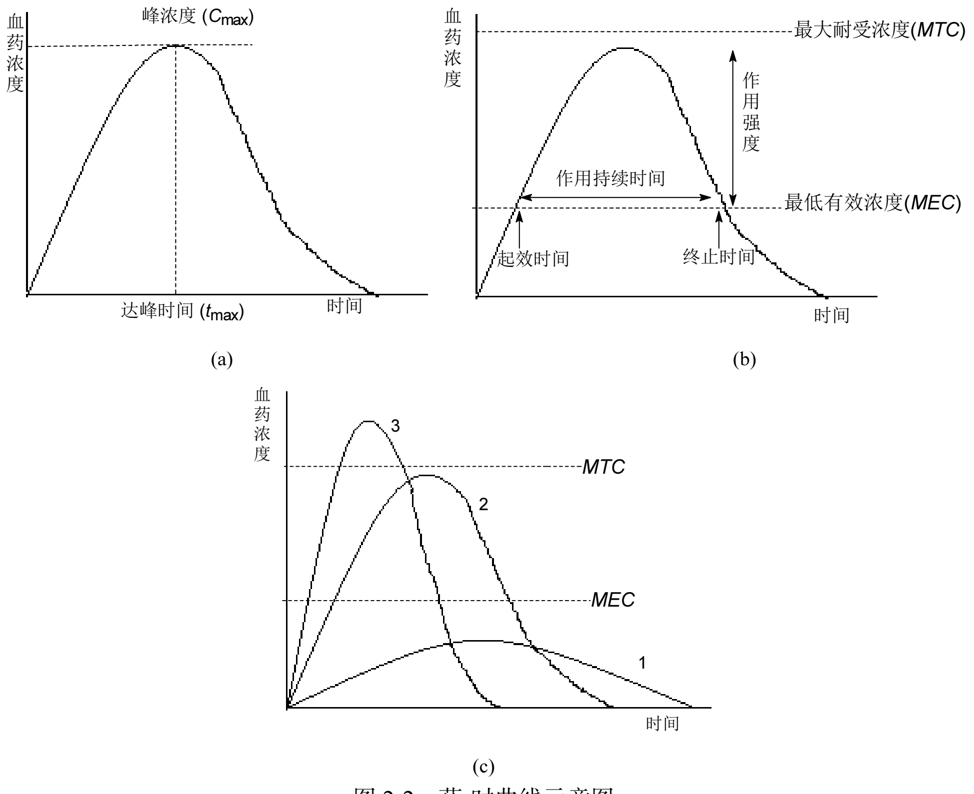


图 2-2　药-时曲线示意图

(a)标示出峰浓度、达峰时间和曲线下面积；(b)标示出最低有效浓度(*MEC*)、最大耐受浓度(*MTC*)、起效时间、终止时间和作用持续时间；(c)由药-时曲线可估计维持治疗浓度所需的剂量。曲线 1 表示达不到有效治疗浓度，曲线 2 有适宜的治疗窗口；曲线 3 表明有相当一段时程的血药浓度超过了最大耐受浓度，会发生安全性问题

2.3.5 生物利用度

生物利用度(bioavailability)是指药物通过非静脉注射的途径，进入血液循环的速率和分量，是药物到达作用部位先决条件，通常用 F(%) 表示。口服给药后，药物经胃肠道吸收，由于吸收的不完全以及在肝脏中代谢的首过效应，导致进入血循环中的药量低于给药量。口服生物利用度是吸收入血循环中药量占口服给药量的百分比，是从 100%给药量中减去被肝脏等抽取的百分数 E(式 2-5)。

$$F = 1 - E \tag{2-5}$$

确定绝对生物利用度的方法是将同等剂量的药物分别经静脉注射和口服给药，测定一定时程的曲线下面积，按照式(2-6)计算出生物利用度。

$$F = AUC_{\text{口服}}/AUC_{\text{静注}} \tag{2-6}$$

如果口服与静脉注射剂量不同，按照式(2-7)计算生物利用度。

$$F = (AUC_{\text{口服}} \times \text{剂量}_{\text{静注}})/(AUC_{\text{静注}} \times \text{剂量}_{\text{口服}}) \tag{2-7}$$

药物的化学结构和物理化学性质是决定生物利用度的主要因素，但难溶物质的颗粒大小、晶型、制剂形式和质量等物理形态可影响生物利用度，机体的生理状态也会影响 F 值。

2.3.6 隔室观念

隔室(compartment)是一种概念，是为了研究药物在体内的动力学行为，将机体视作一个系统，即只要机体的某个(些)部位接受或消除药物的速率常数相似，即可视为同一个隔室。这个系统由一个或数个隔室组成，在每一个隔室内，药物的动力学行为大致具有均一性。用这种概念描述药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程的模型，称作隔室模型。隔室模型是为描述药动学性质而设置的抽象概念，它不受解剖学部位和生理学功能性限制，通过对吸收、分布和消除特征建立起数学模型，揭示药物在体内的动态变化规律。

下面以一室和二室模型为例，说明上述诸参数之间的关系。静脉注射一次给药的动力学如图 2-3(a)和(b)所示。k_{el} 为消除速率常数，k_{12} 和 k_{21} 分别表示药物由隔室 1 转运到隔室 2 和由隔室 2 回到隔室 1 的速率常数。

一室模型认为，机体是一个匀态环境，给药后药物迅速在全身的组织和体液中分布并达到动态平衡。此后，血浆中的药物浓度呈单向性下降。一室模型的血药浓度的对数与时间作图为一条直线，如图 2-3(a)所示。

二室模型是将机体分为中央隔室和外周隔室，药物在中央隔室分布较快，例如血液、细胞外液以及血液供应充分的组织器官；外周隔室的分布速率较慢，例如脂肪组织和皮肤等。二室模型的曲线形状是，先为一段陡直直线，然后较平坦地降低，后者表明存在有第二个缓慢平衡的隔室(图 2-3(b))。图 2-3(b)还表示了用残差法求解各参数的方法。通过测定曲线的末端直线部分(直线 b)的斜率，可以计算出消除速率常数β值。

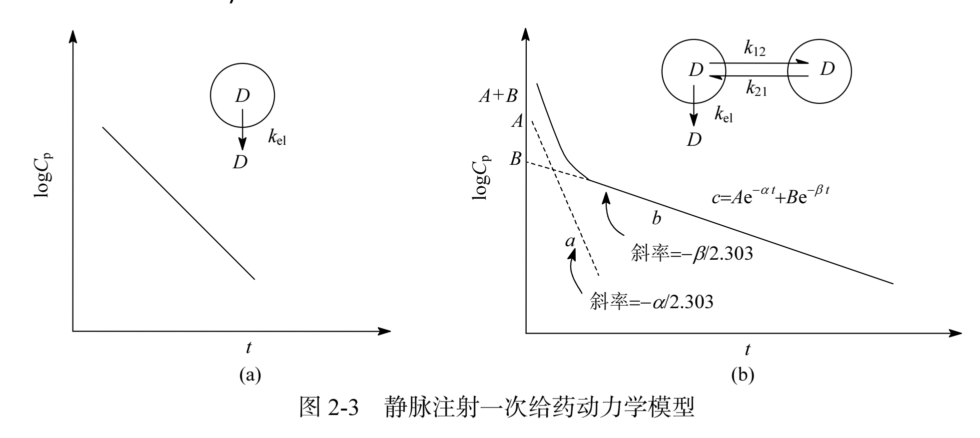


图 2-3　静脉注射一次给药动力学模型

$$\text{消除相斜率}=-\beta/2.303 \tag{2-8}$$

由β值可计算药物的消除半衰期 $t_{1/2(\beta)}$：

$$t_{1/2(\beta)}=0.693/\beta \tag{2-9}$$

将直线 b 外延到零时间，截距为 B。表观分布容积(V_d)可由 B 值按式(2-10)计算：

$$V_d=\text{剂量}/B \tag{2-10}$$

或者

$$V_d=Cl_p/\beta \tag{2-11}$$

根据 $c=Ae^{-\alpha t}+Be^{-\beta t}$，经过整理和取对数，得到

$$\log(c-Be^{-\beta t})=-(\alpha t/2.303)+\log A \tag{2-12}$$

式中，c 为实测浓度；$Be^{-\beta t}$为外推浓度；$(c-Be^{-\beta t})$为残数浓度。在分布相求出各个时间的外推浓度，可计算出残数浓度，并以残数浓度的对数与时间作图，得到残数线，根据残数线的斜率按照式(2-13)求出分布速率常数α：

$$斜率= -\alpha/2.303 \tag{2-13}$$

由α值可求出分布半衰期$t_{1/2(\beta)}$:

$$t_{1/2(\beta)}= 0.693/\alpha \tag{2-14}$$

药-时曲线下面积(AUC)与上述各参数的关系为:

$$AUC = (A/\alpha)+(B/\beta) \tag{2-15}$$

$$分布容积(V_d) = 剂量/\beta\times AUC \tag{2-16}$$

$$清除率(Cl)= 剂量/AUC \tag{2-17}$$

药代动力学参数是药物的化学结构与理化性质同生物体相互作用的特征与时间的关系值，如果将机体视作稳定的恒态系统，则药物的化学结构实际是药代动力学参数的函数。一般而言，药代性质特别是吸收、分布和排泄虽然是由整个药物分子决定的，但在药物化学和分子设计中使用“药动团”(kinetophore)一语，用来描述结构中影响和决定药物分子的药代过程的结构片段或基团，它与决定和影响药物活性的“药效团”(pharmacophore)是构成药物整体结构的两个重要侧面。当然，由于分子结构的完整统一性，药效团的变动，会引起药代性质的改变；药动团的修饰，也能使药效学性质发生量的差异甚至质的变化。

2.4　药物的化学结构与吸收

吸收是药物从给药部位进入血液循环中的过程。除局部用药以在局域发挥作用外，药物需首先吸收到血液中，再转运到作用部位，与靶组织或器官的受体起作用，引起效应器变化，产生生理效应。因此，药物的吸收，血液中的药物浓度，是讨论药代和药效的前提。药物的口服吸收需在胃肠液中有一定的溶解度和穿越细胞膜的能力。

2.4.1　生物膜

2.4.1.1　生物膜的组成

生物膜是由磷脂双分子层构成，层上镶嵌有球蛋白，构成有镶嵌结构的脂蛋白凝胶(图 2-4)。磷脂分子主要是卵磷脂(phosphatidylcholine)、鞘磷脂(sphingomyelin)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine)和磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine)等，每个磷脂的两个疏水烷基链由膜的两边指向内侧，形成膜的中

心层。极性的磷脂“头”构成膜的内外两侧，借静电引力与球蛋白结合，构成镶嵌的结构[5]。

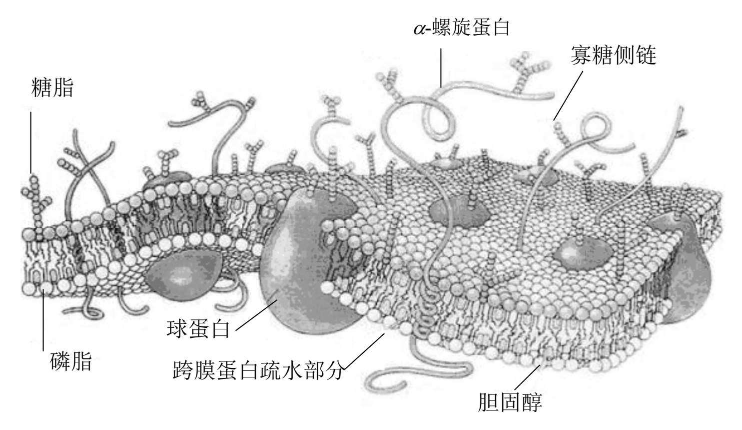


图 2-4　镶嵌有球蛋白的双磷脂层的生物膜结构

胆固醇分子散布于中心层中，有助于膜的稳固化。脂质层上有充满水的小孔，直径为 0.4 nm，小于孔径的分子可以自由经膜出入。膜上还有特异的转运蛋白，有助于特定物质进入到细胞内。药物穿越细胞膜，是从膜外的水溶液中分配进入脂质相，然后到膜的另一侧的水相中。图 2-4 是镶嵌有球蛋白的双磷脂层的生物膜结构。这种模型在热力学上是个稳定系统，对转运过程特别是被动扩散和主动转运过程可以做出合理的解释。

卵磷脂　　磷脂酰乙醇胺

磷脂酰丝氨酸　　鞘磷脂

2.4.1.2 药物的过膜转运方式

1. 被动扩散

被动扩散(passive diffusion)是大多数药物过膜吸收的机理，因而是药物的吸收、分布与排泄等穿越细胞膜的最重要的方式。穿越膜的速率主要取决于药物的脂水分配系数。其特点是：

(1) 遵循 Fick 定律，顺应浓度梯度扩散，由高浓度向低浓度方向扩散。

$$\mathrm{d}M/\mathrm{d}\,t=-DA(\mathrm{d}c/\mathrm{d}X) \qquad (2\text{-}18)$$

式中，$\mathrm{d}M$ 是在 $\mathrm{d}t$ 时间内被吸收的药量；D 为药物的扩散系数；A 为膜的表面积；$\mathrm{d}c/\mathrm{d}X$ 为药物的浓度梯度。或：

$$\text{扩散速率}=[DA(c_1-c_2)]/X \qquad (2\text{-}19)$$

扩散速率遵循一级速率方程，随时间成指数变化：

$$\ln(c)-\ln(c-X)=Dt \qquad (2\text{-}20)$$

式中，c 为开始浓度；$(c-X)$为 t 时间后剩余的浓度，即未扩散入膜的浓度。因此，

$$2.303\lg(c_1-c_\infty)=2.303\lg(c_0-c_\infty)-Dt \qquad (2\text{-}21)$$

根据以上方程，以 $\lg(c_1-c_\infty)$对时间 t 作图，得到一曲线，斜率为$-D$，截距为 $2.303\lg(c_0-c_\infty)$。

(2) 过膜的推动力是浓度差或静电势差，不需要提供能量。

(3) 细胞膜对于通过的物质没有特异性选择，过膜的化合物之间没有竞争抑制现象。

(4) 穿越膜的化合物没有饱和现象。

2. 主动转运

主动转运(active transport)是药物过膜的另一重要方式，其特征是在细胞膜内存在转运蛋白(transporter)，蛋白结构中有特异性的结合域(domain)，与特异性药物结合，调节药物的摄入或泵出，例如在肝、肾、小肠细胞中的转运蛋白，可对底物特异性结合和转运，脑毛细管上皮细胞有向外泵出的转运蛋白 P 糖蛋白，是一种由多药耐药基因编码(MDR1)的糖蛋白。主动转运机理的特点是：

(1) 可以逆浓度梯度或带有电荷时的分子逆电势梯度转运。

(2) 被转运的药物或营养物不需要特定的分配系数，极性强的化合物可经主动转运方式过膜。

(3) 被转运的药物与转运蛋白发生可逆性结合，如图 2-5 所示。

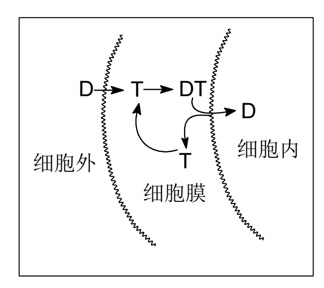


图 2-5　主动转运的示意图

D 为被转运的物质；T 为转运蛋白，可在膜上自由扩散；DT 为可逆性结合物

(4) 主动转运需要有能量的参与，耗费 ATP。

(5) 结构相似的化合物往往经同一载体系统转运，因而相互之间有竞争作用，并受代谢抑制剂的影响。

(6) 具有饱和性。当转运蛋白被底物完全结合后，每单位时间内被转运的分子数达到最大值，因而有饱和现象，属于零级动力学。

(7) 主动转运的物质具有高度的化学特异性，例如 Na^+，K^+，葡萄糖被肾小管上皮细胞的重吸收过程，糖和氨基酸在肠道的吸收等。甲基多巴(1)结构类似于内源性神经递质，氟尿嘧啶(2)相似于尿嘧啶，均是经主动转运吸收的。

1　　　　2

3. 易化扩散

易化扩散(facilitated diffusion)与主动转运相似，需要有特异的转运蛋白参与，有饱和现象，但无须能量的耗费。易化扩散的推动力是浓度梯度，这又类似于被动扩散。细胞摄入葡萄糖、小肠吸收维生素 B_{12}、甲氨蝶呤(methotrexate)进入白细胞均是经过易化扩散过程实现的。

4. 内吞作用

大分子药物、载体药物或颗粒状药物可以通过形成泡囊的方式进入细胞。这种过膜过程首先是在细胞膜上形成凹陷，将药物包封起来，并与质膜分开，形成细胞内泡囊而被摄入胞内。细胞内的泡囊被膜上的溶酶体(lysosome)消化溶解，将溶质或悬浮物释放到胞浆中，如图 2-6 所示。内吞作用(endocytosis)包括两个方面，被吞噬物为固体时称作吞噬作用(phagocytosis)，液体被内吞时为胞饮作用

(pinocytosis)。脂肪、油滴和蛋白质等也经此机理摄入细胞内。生物大分子如核酸、多糖或蛋白质可被细胞膜上的受体识别，而且不同的组织细胞具有特异的识别性能，因而这类大分子可作为特异性载体，将药物缀合于其上，经内吞作用摄入细胞。许多高分子药物被细胞摄取是靠吞噬方式，例如多柔比星(daunorubicin)经三肽或四肽缀合于白蛋白分子上，提高了向肿瘤组织摄入的选择性[6]。凝集素(lectins)是以识别糖基为特征的膜受体蛋白，具有组织特异性，因而糖类常作为分子设计的选择性载体。

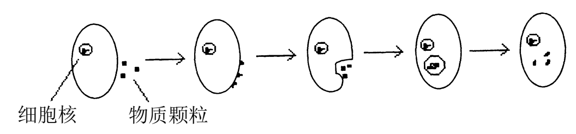


图 2-6 内吞作用的模式

5. 膜孔扩散

膜孔扩散(pore diffusion)是溶质与溶剂或悬浮于水中的固体物质与分散液分开的过程。细胞膜上有直径大约为 7×10^{-10} m 的孔隙，能够通过较小的分子，例如相对分子质量小于 100 的化合物，如尿素和乙二醇等。水分子可以自由、迅速地通过膜孔，以平衡膜内外的渗透压。膜孔扩散的速率取决于压力梯度和颗粒与空隙大小的比例，相差越大，越易滤过。

6. 离子对转运

离子对转运(ion-pair-transport)是内源性物质与强离解性药物相结合的过膜过程。磺酸盐或季铵盐等水溶性大的化合物能够穿越细胞膜，在胃肠道吸收，是借助与内源性物质结合成离子对，成为中性的离子对复合物，以被动扩散的方式穿越脂质膜。

2.4.2 药物在消化道的吸收

经胃肠道给药是药物治疗的最方便和最常用的途径，药物经口服用后，经历口腔、胃、小肠、大肠等不同环境，各器官的 pH 环境和停留时间不同，因而各部位的吸收状况有区别。

2.4.2.1 口腔吸收

口腔黏膜可以吸收药物直接进入血液循环，口腔虽然面积不大，却可以直接进入血液循环，避免药物在肝脏的生物转化而失活(首过效应，见后)。口腔唾液的 pH 6.0，药物的 pK_a 相近或高于 6.0 时，以非离子形式存在，若是亲脂性药物可舌下用药，于口腔黏膜吸收。冠状动脉舒张药硝酸甘油的剂型为舌下含片，避免

了吞服后在肝脏中的破坏。

2.4.2.2　胃吸收

虽然胃中血液循环较好，但因表面积较小和药物停留的时间较短，在胃中吸收的药量有限。胃的充盈度、食物种类和精神状态等可影响吸收。胃液的 pH 1~2，弱碱性药物大部分被质子化成离子型药物，难以穿越脂质膜，不易吸收；弱酸性药物如水杨酸(pK_a 3.5)主要以游离酸形式存在，较易吸收；强酸或强碱性药物在胃中仍可离解，难以吸收。

2.4.2.3　小肠吸收

小肠有许多绒毛，使表面积增大。成人小肠的表面积大约为 200 m^2，与药物的接触面积大，而且停留的时间较长，因而在小肠中的吸收最好。小肠中的 pH 5，即使药物有相当大的离解度，也会因大面积的小肠绒毛而被吸收。大多数药物的消化道吸收是在小肠。

2.4.2.4　大肠和直肠吸收

大肠的表面积比小肠小得多，但仍可吸收某些药物。大肠内的菌丛可对未吸收的药物进行生物转化而活化，易于吸收或发挥药效。

直肠有丰富的血运，药物可经过被动扩散直接进入循环系统，避免了口服对胃肠道的刺激和肝脏的首过效应(first pass effect)。此外，对于有气味的药物或需昼夜连续用药或丧失知觉的患者，用栓剂经直肠给药是个较好的给药途径。

2.4.2.5　首过效应

药物自小肠吸收入体循环前，首先经门静脉进入肝脏，肝脏是机体对内源性和外源性物质代谢的主要器官。进入肝脏中的药物有相当一部分(甚至全部)被代谢，使得活性降低。这种在进入体循环前被药物代谢酶生物转化的作用称为首过效应。易被代谢转化的药物，应考虑到口服用药时的首过效应对药效的影响。关于首过效应引起药物分子的化学变化，将于“药物的生物转化”一节中讨论。

2.4.2.6　肝肠循环

一些药物、胆酸和甾体激素及其 II 相代谢产物(轭合物)从肝脏中分泌到胆汁进入十二指肠，小肠又将它们吸收，经肝门静脉再到达肝脏，这个过程称作肝肠循环(enterohepatic cycle)，该循环直到药物在肝脏中代谢完毕或经肾脏排泄完毕而终止。药物或其代谢产物自胆汁分泌到小肠，大多与葡萄糖醛酸、硫酸或甘氨酸

等相结合，成为酸性水溶性物质，当化合物的相对分子质量大于 500 时，通常经胆汁排泄到十二指肠中。这些被轭合(conjugation)的药物在小肠中经菌丛的酶促水解，生成游离的药物或 I 相代谢物，重新又被吸收到血液中，形成了肝肠循环。例如氯霉素与葡醛酸的轭合物(conjugate)从胆汁分泌到肠中后，被肠中的细菌酶水解，生成游离的氯霉素又被吸收。

肝肠循环是药物长效作用的原因之一，也因此会引起药物的蓄积中毒，但并非所有的药物都有肝肠循环作用。丙磺舒(probenacid，3)、格鲁米特(glutethimide，4)、地高辛(digoxin，5)、哇巴因(ouabain)、己烯雌酚(diethylstibestrol)等都因此效应而作用时间较长。苯巴比妥(phenobarbital)和螺内酯(spironolactone，6)可促进肝脏分泌胆汁，从而降低血药浓度，可用此解除药物中毒。

3　　4

5　　6

2.4.2.7　P-糖蛋白逆转吸收作用

P-糖蛋白(P-glycoprotein，P-gp)是介导内源性和外源性物质主动转运的载体蛋白，分子质量为 170 kD，处于细胞膜上，是依赖于 ATP 的调控蛋白，其作用是将药物从细胞中排出，因而是药物的吸收和细胞摄入的逆过程。P-糖蛋白在正常组织如肠黏膜、肝、肾和脑组织中都有表达，例如将药物从肠浆膜转运到肠黏膜而排出到肠腔，这种作用作为药物的外排泵(efflux pump)，是小肠吸收的逆过程。肿瘤化疗的过程由于高表达 P-糖蛋白导致癌细胞多药耐药(multiple drug resistance，MDR)而降低疗效。P-糖蛋白对药物的外排作用具有结构多样性，例如环孢素 A、地高辛、奎尼丁和 HIV-1 蛋白酶抑制剂等都可被 P-糖蛋白阻止吸收。在肿瘤化疗中，能够抑制 P-糖蛋白的表达和功能，从而抑制 P-糖蛋白外排作用的物质称为多药耐药逆转剂，可提高细胞对药物的摄入，有利于治疗，例如维拉帕米、尼莫地

平和三氟吡嗪等是 MDR 逆转剂。P-糖蛋白的抑制剂或诱导剂在临床上会引起药物-药物相互作用。

2.4.3　药物的化学结构对吸收的影响

2.4.3.1　分子尺寸

分子的大小对于过膜吸收有很大的影响，可用相对分子质量(MW)或分子体积(MV)表征，分子体积与其表面积成比例。低 MW 的分子比高 MW 化合物容易被吸收，反之，高 MW 的分子不易被吸收，却容易被胆汁排泄。MW 已经成为类药性和成药性的重要指标。根据统计，临床应用的大多数药物 MW 在 400 以下，说明较小的 MW 有利于药物的吸收和分布[7]。Wenlock 等系统地分析了 1985~2000 年研究与开发的候选药物在临床 I 期、I 期中止、II 期、II 期中止、III 期、III 期中止和注册申请的药物，并与美国上市的 594 个口服药物进行了回顾性分析，表明被终止研发的药物大都是 MW 较高的化合物，而且，上市或进入 III 期临床试验药物的平均 MW 低于前期研发的平均 MW[8]。

2.4.3.2　溶解性

药物吸收的前提是在吸收部位呈溶解状态，水溶解性是吸收的先决条件。若溶解速率高于吸收速率，吸收过程与药物的分散状态和剂型关系较小；若溶解速率低于吸收速率，则溶解速率是吸收过程的限速步骤。

同系列或同类型的固体物质的水溶解度与其熔点有密切的相关性，熔点越高，溶解度越小。固体物质的高熔点意味着有较强的晶格能，水分子的热运动难以将高晶格能结晶物质分散成溶解状态。水溶解度与熔点之间的关系用 Scatchard-Hildebrand 方程表征：

$$\lg X_i^c = -\Delta H_f/2.303R[(T_m - T)/T_m T] \tag{2-22}$$

式中，X_i^c 为结晶性溶质的理想溶解度(摩尔分数)；ΔH_f 为溶质的摩尔熔化热；T_m 为溶质的熔点；T 为所选定的温度。

例如甾体药物的水溶解度与相应的熔点呈负相关关系，即熔点越高，水溶解度越小，熔点范围是 131~293℃的 19 个甾体化合物的溶解度与熔点的关系式为：

$$\lg S_w^c = -0.88 \lg P - 0.01T_m + 0.08 \tag{2-23}$$

12 个不同取代的六甲基蜜胺的溶解度与熔点的关系式为：

$$\lg S_w^c = -0.904 \lg P - 0.007T_m + 0.07 \tag{2-24}$$

对氨基-和对羟基苯甲酸酯的溶解度与熔点的关系式为：

$$\lg S_{\mathrm{w}}^{\mathrm{c}} = -1.14 \lg P - 0.005T_{\mathrm{m}} + 0.633 \tag{2-25}$$

式中，$S_{\mathrm{w}}^{\mathrm{c}}$ 为化合物在水中的溶解度；lg$P$ 为脂水(正辛醇-水)分配系数；T_{m} 为熔点。由以上方程可知，水溶解度与 lg$P$ 和 T_{m} 均呈负相关，回归系数分别约为–0.1 和–0.01，即药物的分配系数越大和(或)熔点越高，越不利于溶解。所以，为增加化合物的水溶解度可以在保持分配系数不变的前提下，降低熔点，以降低晶格能；或者降低脂溶性，不使晶格能增加。

治疗痛风病的药物别嘌呤醇(allopurinol)水溶解度很小，可能是分子间形成较强氢键的缘故，这也反映在具有高熔点(365℃)的性质上。若将 6 位羟基与醛化合物生成缩醛，虽然 lg P 增高，但降低了熔点，提高了水溶解度，说明熔点是决定这类化合物溶解度的主要因素(表 2-1)。

表 2-1 别嘌呤醇及其衍生物的熔点和溶解度的关系

R	熔点/℃	溶解度 /(mmol/L)
H	365	5.73
$-\mathrm{CH(CH_3)OC_2H_5}$	185	9.17
四氢吡喃-2-基	203	16.53

又如阿糖腺苷(vidarabine)熔点为 260℃，溶解度为 0.0018 mol/L(25℃)，而 5′-甲酰化衍生物熔点为 175℃，溶解度增加到 0.12 mol/L。

R = H 阿糖腺苷

R = CHO 5′-甲酰阿糖腺苷

分子中引入弱碱或弱酸性基团，可因提高离解性而增加溶解度；加入非离解性的极性基团，也可增加水溶性，但也会因此增加固体物质的晶格能，抵消了极性基团对水溶性的贡献。

2.4.3.3　分配性

多数药物是通过被动扩散的机制透入细胞膜的，透过细胞膜的分子既需要有一定的水溶解性(成为分子分散状态)，又应有相当的亲脂性，以适配细胞膜的亲脂质性。药物的亲脂性系指分子或其片段对脂质环境的亲和力，常用分配系数(partition coefficient，P)表征，分配系数是化合物在两种不相混合的有机相与水相(或缓冲液)中溶解并达到平衡时的浓度比值，用式(2-26)的对数形式表示。测定 $\lg P$ 值常用的有机相是正辛醇。

$$\lg P = \lg ([D]_{有机相}/[D]_{水相}) \tag{2-26}$$

式中，$[D]_{有机相}$和$[D]_{水相}$分别为药物在有机相和水相的浓度。药物在两相间的分配是个平衡过程，如果化合物可部分离解，则在水中又存在中性分子与离子间的平衡，而只有中性分子可进入有机相。当然，带电荷原子附近的取代基以及电荷的离域化会使解离过程稳定化，因而也不完全排除向有机相中的分配[9]。图 2-7 是离解性分子在两相中分配的示意图。

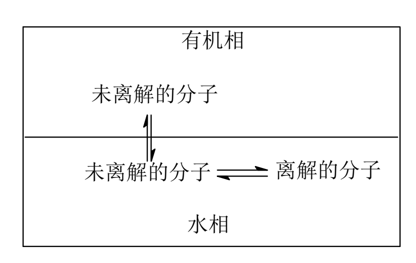


图 2-7　离解性分子的分配模式图

表征弱酸或弱碱性化合物的分配性用分布系数(distribution coefficient，D)表示，分布系数是离解性化合物在有机相和缓冲液中分布达到平衡的浓度比。在给定的 pH 下化合物固有的亲脂性与离解度决定了其有效的亲脂性或净亲脂性。酸性化合物(HA)的分布系数(D)为：

$$D = [HA]_{有机相}/([HA]_{水相}+[A^-]_{水相}) \tag{2-27}$$

HA 的离解常数为：

$$K_a = [H^+][A^-]/[HA] \tag{2-28}$$

将式(2-27)和(2-28)合并得到

$$D = P/(1 + \{K_a/[H^+]\}) \tag{2-29}$$

$$pH - pK_a = \lg [(P/D) - 1] \tag{2-30}$$

因此

$$\lg D = \lg P - \lg(1 + 10^{\mathrm{pH} - \mathrm{p}K_a}) \tag{2-31}$$

按照同样的推导，得出碱性化合物的分布系数与分配系数和 pK_a、pH 的关系为：

$$\lg D = \lg P - \lg(1 + 10^{\mathrm{p}K_a - \mathrm{pH}}) \tag{2-32}$$

根据弱酸或弱碱的 pK_a、lg P 和某 pH，可由方程(2-31)和(2-32)计算出实际的亲脂性。

药物在小肠内吸收大致随分布系数的增大而提高，图 2-8 表明了这种趋势，化合物的 lg$D$ > 0 者几乎完全吸收，两个例外的化合物(△)是由于相对分子质量大于 500 的缘故。

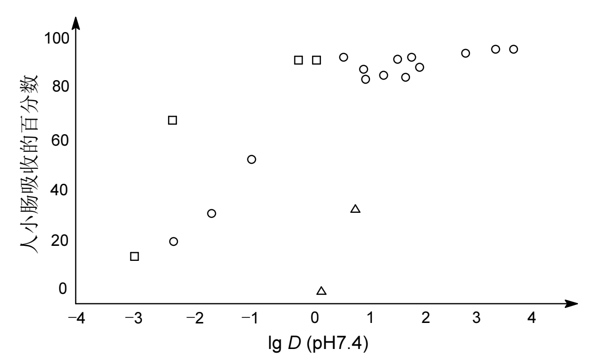


图 2-8　不同分布系数的药物与人小肠吸收百分数的关系

氨苄西林(ampicillin，7)分子中有羧基，在肠道中因离解作用而不易吸收，因而口服效果差。制成易水解性酯，通过遮盖极性基团，可提高分子的亲脂性，增加口服生物利用度，例如仑氨西林(lenampicillin，8)可口服吸收，到体内后水解出氨苄西林，甘油醛(9)和二氧化碳(碳酸盐)。

8　　　　7　　　　9

2.4.3.4　离解性

药物的离解度越高，吸收性越差。众所皆知，离解度与化合物的离解常数和介质的 pH 相关。以苯胺(pK_a 4.6)为例，在不同环境中离解型与非离解型的比例是

不同的。所以，弱酸弱碱性药物在口腔、胃、血液和肠中的吸收是不同的。已知：

$$RH \rightleftharpoons R^- + H^+ \ (酸) \quad RH^+ \rightleftharpoons R + H^+ \ (碱)$$

$$K_a = \frac{[R^-][H^+]}{[RH]} \quad K_a = \frac{[R][H^+]}{[RH^+]}$$

取负对数，得到 Henderson-Hasselbach 方程：

$$pK_a = pH + \lg\frac{[RH]}{[R^-]} \ (酸) \quad pK_a = pH + \lg\frac{[RH^+]}{[R]} \ (碱)$$

习惯上酸碱都用 pK_a 值表示离解常数。苯胺在唾液中(pH 6)中性分子 R 和质子化苯胺 RH^+的比例计算如下：

$$4.6 = 6 + \lg\frac{RH^+}{R}，\quad -1.4 = \lg\frac{RH^+}{R}，\quad \bar{2}.6 = \lg\frac{RH^+}{R}$$

$$0.0398 = \frac{RH^+}{R}，\quad 0.0398R = 1RH^+，\quad 3.98R = 100RH^+$$

故 $RH^+ = 3.98\%$　　R= 100%

在血液中(pH 7.4)	$RH^+ = 0.16\%$	R= 100%
在胃中(pH 2)	$RH^+ = 39800\%$	R= 100%
在肠中(pH 5)	$RH^+ = 39.8\%$	R= 100%

大鼠肠中的不同部位 pH 不同，酸性或碱性药物在不同的 pH 介质里存在的中性分子比例是不同的，因而吸收状况不同。图 2-9 是 4 种药物的吸收与 pH 关系图。

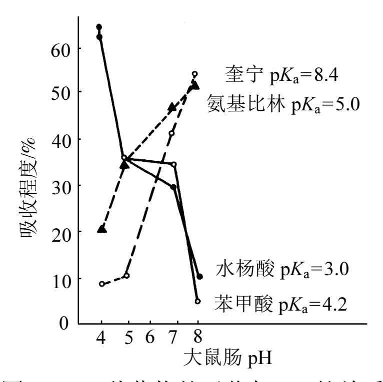


图 2-9　4 种药物的吸收与 pH 的关系

胃肠道驱虫药最好不被吸收，为此可在药物结构中引入持久性电荷如季铵离

子，季铵离子不受 pH 的影响而存在。例如驱虫药恩波吡维胺(pyrvinium pamoate，10)分子中含有的季铵离子不被吸收，从而减少了全身的不良反应。

为使磺胺药抑制肠道的深部细菌，分子中可引入不易被吸收的离解性基团，例如将琥珀酸或邻苯二甲酸经单酰胺键分别与磺胺噻唑和磺胺乙酰相连，得到琥珀磺胺噻唑(succinylsulfathiazole，11)和酞磺醋胺(phthalylsulfacetamide，12)，因在肠道离解而不被吸收，待酰胺键被肠中酶水解后，分别生成磺胺噻唑和磺胺乙酰而抑肠道菌。

10

11　　12

阿卒费丁(azulfidine，13)是磺胺吡啶与 5-氨基水杨酸经偶氮基相连的化合物，治疗过敏性结肠炎。在肠中细菌的作用下，阿卒费丁的偶氮基被还原裂解，生成 5-氨基水杨酸而起效。所以，阿卒费丁是 5-氨基水杨酸的前药[10]。

13

2.4.3.5　氢键和极性表面积

分子中含有特定的氢键给体(hydrogen bond donor)或氢键受体(hydrogen bond acceptor)不仅是与受体结合的重要因素，而且对穿越生物膜有重要影响。过多的氢键对穿越细胞膜和吸收是不利的。由于正辛醇分子中含有能够形成氢键的羟基，有形成氢键的作用，因而测定多氢键药物的 lg*P* 值往往高于实际的过膜能力，是

因为有较高的水合作用，难以去除分子外的水合层。对于这类药物可用环己烷-水系统测定 $\lg P_{环己烷}$，用它本身或用$\Delta\lg P(=\lg P_{环己烷}-\lg P_{正辛醇})$消除氢键的影响。

分子的极性表面积(polar surface area，PSA)与含有的氧和氮原子数量成正比关系，而且分子的构象对 PSA 也有一定影响。药物的 PSA 与口服生物利用度(F)有相关性，研究 20 个结构和物化性质不同的化合物，口服利用度范围为 0.3%~100%的药物，发现 F 值与 PSA 呈 S 形曲线关系(图 2-10)。$F > 90\%$的分子 PSA ≤ 60 Å^2，$F < 10\%$的分子 PSA≥140 Å^2。[10]

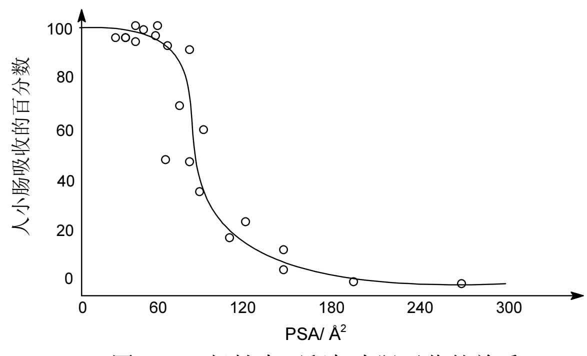


图 2-10　极性表面积与小肠吸收的关系

Kelder 等计算了 3776 个中枢神经系统(CNS)药物和 1590 个非 CNS 药物的极性表面积，发现这两类有明显的不同：通过被动扩散方式口服吸收的药物 PSA 平均值不大于 120 Å^2，需要穿过血脑屏障的 CNS 药物的 PSA 为 60~70 Å^2。[11]

2.4.3.6　口服可吸收性的类药 5 原则

类药 5 原则(rule of five)是 Lipinski 将 Derwent Drug Index 数据库中 2245 个临床 II 期以上药物的结构和物化性质归纳出的经验性规律，该原则是：①相对分子质量 500 以下；②计算的分配系数 $C\log P$ 不大于 5；③氢键的给体不多于 5 个；④ 氢键的接受体不多于 10 个。因均为 5 或 5 的倍数，故称之为类药 5 原则。发现胃肠道难以吸收进入细胞的药物大都同时违背该原则中的两项，换言之，超出类药 5 原则的化合物往往不具备类药性，或难以成药。[12]

2.4.3.7　化学结构与吸收作用的定量关系

Lien 最早用多重回归分析方法对药物的化学结构(或物理化学性质)与吸收的定量关系，提出了如下的数学模型[13]：

$$\lg 吸收\% 或 \lg k = -a(\lg P)^2 + b\lg P - c\lg(U/D) + d\lg MW + e\lg x + f \tag{2-33}$$

式中，$\lg k$ 为吸收速率常数的对数；P 为药物的分配系数；(U/D)为化合物的离解度[弱酸的 $\lg(U/D) = \text{p}K_a - \text{pH}$；弱碱的 $\lg(U/D) = \text{pH} - \text{p}K_a$]；$MW$ 为分子量；x 为药物的立体因素。

中性化合物或化合物的 $\text{p}K_a$ 相同时，$\lg(U/D)$为常数，而且当分子量或立体因素相近时，方程(2-33)可简化为

$$\lg k = -a(\lg P)^2 + b\lg P + c \tag{2-34}$$

方程(2-34)说明药物的分配系数影响吸收速率，呈抛物线关系。在低分配系数范围内，随着药物的分配系数或脂溶性增加，吸收速率提高，达到最大吸收速率后，再增高脂溶性，吸收速率下降。具有最大吸收速率的分配系数称作最适分配系数，用 $\lg P_{opt}$ 表示。$\lg P_{opt}$ 可由式(2-35)计算：

$$\lg P_{opt} = b/2a \tag{2-35}$$

$\lg P_{opt}$ 是机体的生物膜与被吸收药物的特征值。

烷基取代的氨基甲酸酯类化合物在胃和肠中的吸收速率与结构的关系如下：

在胃中：

$$\lg k = -0.075(\lg P)^2 + 0.251\lg P - 2.212$$

$$n = 13,\quad r = 0.888,\quad s = 0.066,\quad \lg P_{opt} = 1.67 \tag{2-36}$$

同样的 13 个化合物在肠中吸收方程为：

$$\lg k = -0.090(\lg P)^2 + 0.059\lg P - 0.853$$

$$n = 13,\quad r = 0.860,\quad s = 0.080,\quad \lg P_{opt} = 0.39 \tag{2-37}$$

$$\lg k = -0.100(\lg P)^2 + 0.128\lg P + 0.108\, E_s - 0.800$$

$$n = 13,\quad r = 0.948,\quad s = 0.053,\quad \lg P_{opt} = 0.64 \tag{2-38}$$

比较方程(2-36)和(2-37)的常数项，可知在肠中的吸收速率是胃中的 22 倍(两个方程的常数项差值 1.359 的反对数)，可解释为肠的表面积较大、容易吸收的缘故。肠和胃的最大吸收速率的分配系数相差 1.28 个对数单位，即在肠中吸收时所需化合物的亲脂性比胃中吸收约低 20 倍。图 2-11 为方程(2-36)和(2-37)的曲线图。与方程(2-37)比较，方程(2-38)中加入了 E_s 项，提高了方程的显著性，说明小肠吸收也与分子的大小相关。

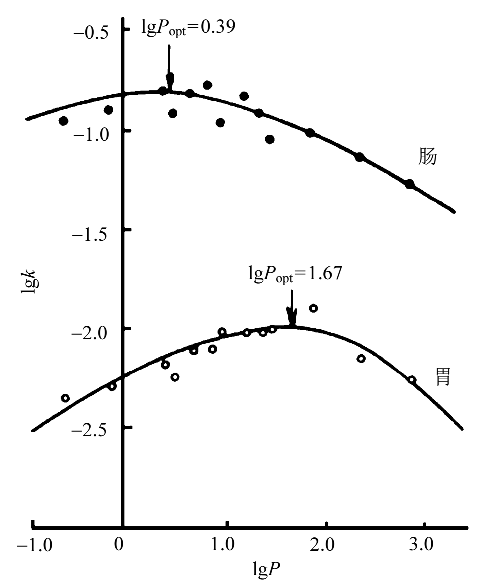


图 2-11　烷基化氨基甲酸酯在胃和肠中吸收速率与分配系数(正辛醇-水)关系

2.4.4　离体细胞模拟肠中吸收

药物的口服利用度是药物在胃肠道吸收效率的量度，常规的方法是根据曲线下面积(*AUC*)计算口服吸收的效率。也可用整体动物试验，比较静脉注射与口服后血药浓度的差异。由于动物种属和个体差异，用药量大和试验周期长，特别是在早期优化阶段有较大化合物样本时，都做动物实验是不现实的，希望能有简便方法评价穿越或进入细胞的体外试验，考察化合物的吸收性。

Caco-2 细胞是人结肠癌细胞(human colon carcinoma cell)，可作为体外试验模型，评价药物的吸收性能[14]。该模型是将 Caco-2 细胞在涂有胶原的聚碳酸酯膜上培养，生长为单层细胞，经若干天后测定药物的吸收量，作为评价药物在小肠内皮细胞传输性能。由于 Caco-2 细胞来源于人体结肠腺癌，其形态、酶系统的表达以及透入性能等均类似于小肠，而且生命力强，易于培养，因而被用于评价药物体外吸收性能的模型，预测药物在体内的吸收性[15]。

药物在 Caco-2 细胞模型的转运过程，是从 Caco-2 单细胞层上(相当于肠腔侧)越过单细胞层或者经由细胞间隙到达细胞基底。穿越过程包括被动扩散、主动转运和吞饮作用等。

Artursson 等用 20 多个化合物研究证明，经被动扩散透入 Caco-2 细胞的表观透入系数(P_{app})与口服利用度有良好相关性，表观透入系数可用下式表征：

$$P_{app} = \Delta Q/\Delta t\ A\ c_0 \tag{2-39}$$

式中，ΔQ 为Δt 时间内药物的透入量；A 为细胞膜面积；c_0 为药物的初始浓度。该实验表明，容易吸收的药物表观透入系数 $P_{app}>2\times10^{-6}$cm/s；中等吸收物质 $P_{app}=2\times10^{-6}\sim2\times10^{-7}$cm/s；难吸收物质(<1%)$P_{app}<12\times10^{-7}$cm/s。

用 Caco-2 细胞研究 CCK-A 受体激动剂 1,5-苯并二氮䓬的透入过程，其表观透入系数 P_{app} 与形成氢键数(HB)、分子表面积(A)和分子的溶剂化性能 E_{solv} 相关[16]：

$$\lg P_{app} = -0.27\text{HB} - 0.005A + 0.03E_{solv} + 8.05 \tag{2-40}$$

HB 和 A 的系数都是负值，说明氢键越多或分子表面积越大越不利于透入细胞膜。药物的可溶剂化越大越有利于过膜，E_{solv} 项系数为正值。

Caco-2 细胞也可通过主动转运机理摄入药物，例如氨基酸和 L-DOPA 等，它们是经特异性蛋白介导输送到细胞中。Caco-2 细胞还因含有肠系中存在的部分酶，可用来研究药物代谢作用。

2.5 药物的化学结构与分布

药物吸收入循环血液中后，要分布到器官或组织细胞或细胞间质中，分布过程取决于药物的物理化学性质和组织器官的生理特征。许多药物只有从血液循环进入组织或器官后，才能发挥药理作用。例如作用于中枢神经系统的药物应分布到中枢神经系统中；抗肿瘤药物进入肿瘤部位等。分布过程是药代动力学的重要环节，特异性分布是药物呈现选择性作用的前提。

药物在血液中以游离的形式和与血浆蛋白结合的形式存在，两者处于动态平衡。与蛋白质结合的药物不能穿越血管壁，只有游离的药物分子才能穿越毛细血管分布到细胞间液中。毛细血管的孔径平均为 500~1000 Å，所以与蛋白结合的药物不能透过毛细血管。分布到细胞内的药物又与胞内的蛋白或胞内膜结合，又形成新的动态平衡(图 2-12)。

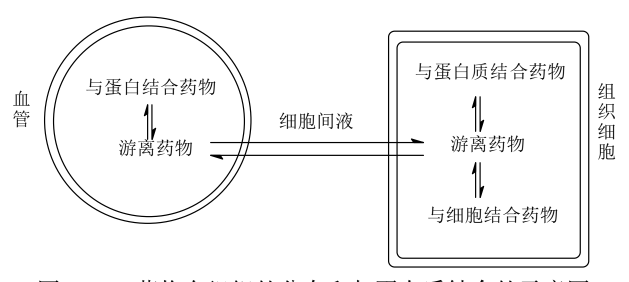


图 2-12　药物在组织的分布和与蛋白质结合的示意图

血液中的游离状态的药物浓度决定了分布到组织中的浓度，并因此产生药理

活性。药物向组织器官的分布速率取决于血流量，例如在心脏、肺、肝、肾和脑中血流丰富，可迅速达到平衡，而骨骼、脂肪组织和皮肤血流量少，分布很慢。分布程度取决于药物的化学结构、环境的 pH、与血浆蛋白和组织蛋白的结合作用等，例如分子的大小、分布系数和氢键的形成能力等。一般而言，含有氮、氧元素和分子较小的化合物的分布主要受制于分布系数，复杂的大分子的分布取决于分子的大小和形成氢键的能力。药物的分布程度取决于药物的化学结构、环境的 pH、与血浆蛋白和组织蛋白的结合作用等[17,18]。

2.5.1　分子大小对分布的影响

水溶性强、分子量较小的药物分子可以穿过毛细血管壁上的小孔，例如相对分子质量低于 100 的有机小分子如尿素或丙三醇等能够自由地穿越血管。与血浆蛋白结合的药物不能离开毛细血管。

血浆代用品是利用其分子量大、不能穿越血管壁和具有胶体渗透压的性质，维持血液循环中的容积。例如环糊精、聚葡萄糖、明胶和聚乙烯吡咯烷酮等。对于代用品的化学结构无特定的要求，但应当无毒性和免疫原性，有适宜的分子量，可停留在血管中，维持一定量的体液。血浆代用品的分子设计主要有两个问题：适宜的分子量和无抗原反应。

2.5.2　亲脂性对分布的影响

药物穿越细胞膜并向组织器官内分布，需要有一定的亲脂性，这是因为决定药物分布速率有两个因素，一是药物的浓度梯度，另一是扩散常数，扩散常数与分配系数相关，化合物的分配系数是亲脂性的量度。

药物分布的一个重要方面是在中枢神经系统和外周分布的关系。中枢与外周循环之间由血脑屏障隔开，穿越血脑屏障的药物一般需要更高的亲脂性。Kutter 等对 11 个吗啡类镇痛药的分布过程进行了精确的研究，用静脉注射(iv)和颅内注射(iventr)观察动物的镇痛效果。认为静脉注射的最低有效剂量(于呈现最大镇痛作用的时刻)受两个因素控制：穿越血脑屏障的能力和与阿片受体的亲和力[式(2-41)]，而颅内注射镇痛的最低有效剂量只与亲和力相关[式(2-42)]：

$$-\lg ED_{(\mathrm{iv})} = a \lg A_{\text{透入}} + b \lg k_{\text{亲和力}} + c \tag{2-41}$$

$$-\lg ED_{(\mathrm{iventr})} = \lg k_{\text{亲和力}} + d \tag{2-42}$$

式中，$ED_{(\mathrm{iv})}$和 $ED_{(\mathrm{inventr})}$分别代表药物呈现相同镇痛效果的静脉注射剂量和颅内

注射剂量；$\lg A_{透入}$代表药物穿越血脑屏障的能力；$k_{亲和力}$表示药物对受体的亲和力[19]。

式(2-41)减去式(2-42)，消除了药物与受体结合的一项，得：

$$-\lg ED_{(\mathrm{iv})} - (-\lg ED_{(\mathrm{iventr})}) = a \lg A_{透入} + c' \quad (2\text{-}43)$$

或

$$\lg [ED_{(\mathrm{iventr})} - ED_{(\mathrm{iv})}] = a \lg A_{透入} + c' \quad (2\text{-}44)$$

用式(2-44)作为数学模型分析实验数据，得到的最佳回归方程为：

$$\lg [ED_{(\mathrm{iventr})} - ED_{(\mathrm{iv})}] = 0.79 \lg P - \lg (32.2\, P^{0.86} + 1) + 0.82 \quad (2\text{-}45)$$

$$n = 11,\ r = 0.99,\ s = 0.35$$

式(2-45)的左方代表药物穿越血脑屏障的能力，数值越大，进入中枢的能力越强；右方说明向中枢的分布过程为非线性关系，因而有最适宜过血脑屏障的分配系数值 $\lg P_{\mathrm{opt}}$。笔者用比较分子力场分析法研究了上述数据的三维定量构效关系，结果表明立体场和静电场影响穿越血脑屏障，该立体场隐含了药物与血脑屏障的范德华作用[20]。

脑内和静脉注射放射性同位素标记的药物，数分钟后测定脑内和血浆中的放射活性，结果表明，脑内和血浆中放射性比值的对数与疏水性的关系与上述镇痛模型的结论是一致的。

改变化合物的亲脂性或分配性，可以影响分布的特异性。例如调整有机硼化物的结构和亲脂性，可影响在脑的正常组织与脑瘤中分布的特异性。硼同位素 ${}^{10}_{5}\mathrm{B}$ 可吸收热中子而裂变，释放出的能量可杀伤肿瘤组织，达到治疗目的。

$${}^{10}_{5}\mathrm{B} + {}^{1}_{0}\mathrm{n} \rightarrow {}^{4}_{2}\mathrm{He} + 2.4\mathrm{MeV} \quad (2\text{-}46)$$

有机硼化物在脑瘤组织及附近的脑组织中分布较多，若化合物的脂溶性高，能够广泛进入脑内，以致中子照射时会损伤正常脑细胞和中枢功能。改变结构以调整硼化物的分配系数，发现低分配系数的化合物，${}^{10}_{5}\mathrm{B}$ 的瘤/脑浓度比值较高，中子照射时中枢毒性反应较小。表 2-2 中列出了各种对位取代的苯硼酸经中子照射的治疗效果，当 R 为极性基团例如羧基或丙氨酸基团时，在肿瘤组织的分布明显高于正常脑组织，而亲脂性基团如甲硫基主要分布于正常组织[21]。

表 2-2　有机硼化合物的分配系数与分布特异性的关系

R	*P*(水/苯)	B 在瘤/脑的比值
— SCH_3	0.7	0.2
— Br	0.8	0.2
— OCH_3	3.0	0.7
— H	6.0	0.7
— CHO	29.0	0.6
— COOH	67.0	4.8
— $CH_2CH(NH_2)COOH$	>200	8.5

用微透析方法测定脑脊髓中细胞外液的药物浓度，通常作为穿越血脑屏障的量度。药物在脑脊髓液中的浓度与对中枢的药理作用密切相关。在脑中未与蛋白结合的游离药物与血中游离药物的浓度比值，取决于药物的亲脂性，例如极性强的药物阿替洛尔(atenolol)的脑中浓度只是血药浓度的 0.4%，而高亲脂性的卡马西平(carbamazepine)的脑中和血中药物浓度相同。图 2-13 是口服 5 种亲脂性不同的药物在一定时间内脑中药物的曲线下面积(*AUC*)与血中的 *AUC* 之比。[22]

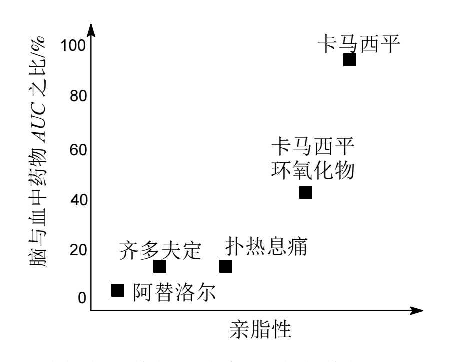


图 2-13　不同亲脂性药物脑中与血液中药物的 *AUC* 之比的关系

2.5.3　氢键形成能力对分布的影响

药物结构中含有氢键给体或接受体，可增加分子的极性，不利于进入中枢神经系统，因而设计 CNS 药物时宜避免或较少有氢键；反之作用于外周的药物，为避免药物进入中枢，宜引入产生氢键的原子或基团。例如抗过敏药物 H1 受体阻断剂希望只分布于外周而不进入 CNS，Young 等研究了 6 种抗组胺药物的脑内和

血液中药物的比值与药物形成氢键的能力，表明具有反比关系[23]。图 2-14 的横坐标Δlg P，是化合物在环己烷-水的分配系数 lg P_{chx} 与在正辛醇-水的 lg P_{oct} 之差，该差值表征药物的形成氢键能力，差值越大，形成氢键能力越强。

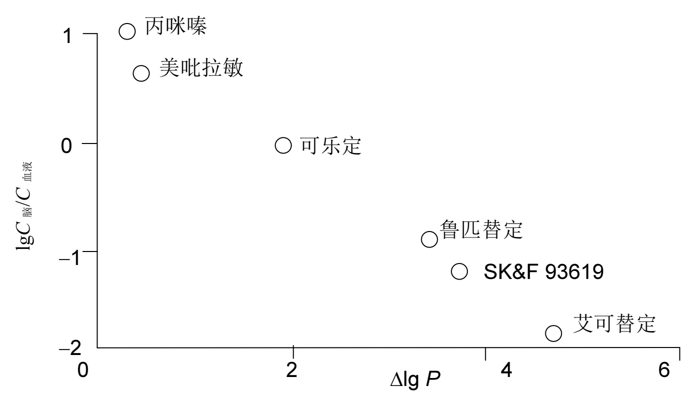


图 2-14　抗组胺药物进入中枢的浓度与形成氢键能力的关系

2.5.4　电荷对分布的影响

药物成离解状态而带电荷时，较难穿越细胞膜和血脑屏障，因而成为分布过程的限制因素。对于作用于外周的药物，不希望有中枢神经作用，可在药物结构中加入离解性基团，只作用于细胞表面，不能穿越细胞膜。反之，作用于中枢神经的药物，透过血脑屏障是重要前提。抗肿瘤药物往往作用于细胞内的核酸、酶或蛋白质，所以，进入细胞内是抗肿瘤药物作用的先决条件。显然，这类药物不宜有牢固连接的完全解离的基团。但若药物在进入细胞或中枢之前，离解性基团被裂解掉则是可行的，用这种方法进行结构改造，有很大的自由度。

有机胺类有较弱的碱性，在生理条件下，只有部分离解，因而会部分地以中性分子的形式进入 CNS。但若被季铵化，则因难以穿越血脑屏障而避免了中枢作用。例如胆碱酯酶抑制剂碘依可酯(ecothiopateiodide，14)是硫磷酯(15)的碘甲烷化产物，只作用于中枢外的胆碱酯酶，而硫磷酯可抑制中枢与外周的胆碱酯酶。

H_5C_2O–P(=O)(OC_2H_5)–S–CH_2CH_2–$N^+(CH_3)_3$ I^-　　　H_5C_2O–P(=O)(OC_2H_5)–S–CH_2CH_2–$N(CH_3)_2$

14　　　　　　　　15

治疗消化道溃疡的蕈毒碱受体拮抗剂大多有季铵结构，如普鲁本辛(propantheline bromide，16)和奥酚溴铵(oxyphemonium bromide，17)，均无中枢神经系统作用。

16　　17

抗过敏药物噻丙铵(thiazinamium metisulfate，18)、阿普比特(aprobit，19)都是季铵化合物，是组胺 H1 受体拮抗剂。其相应的叔胺异丙嗪(promethazine，20)可分布到中枢神经系统中，有很强的镇静作用。

18　　19　　20

阿托品(atropine，21)是叔胺化合物，可进入脑内，因而有中枢作用，而季铵化的异丙托溴铵(ipratropium bromide，22)只对外周神经有解痉作用，为支气管扩张药。

21　　22

应当指出，季铵基团可影响分布，有时还会导致新的药理作用，例如对肌肉有松弛作用的箭毒类化合物，为双季铵化合物，季铵化合物有时是表面活性物质。

分子中有强酸性基团如磺酸基时，在体内 pH 条件下可完全离解成负离子，在肠内吸收较慢，但肾脏吸收较快，故分子中引入磺酸基可降低生理活性、蓄积性、致癌性和毒性。例如β-萘胺(23)有致癌作用，而 2-氨基萘-7,8-二磺酸二钠(24)则无致癌作用。奶油黄(butter yellow，25)为强致癌剂，而引入磺酸基后成为无致癌作用的甲基橙(methyl orange，26)。

23　　24

25　　26

2.5.5　药物的化学结构与组织成分或蛋白结合的关系

药物与体内成分结合，可以是特异性结合，例如与特定靶标受体的结合，是引发生物效应的起因，常与药物的特异性结构有关；也可以是非特异性结合，例如与血浆蛋白、组织蛋白或脂质的结合，虽不产生药理效应，但影响药代过程，因而间接地影响受体部位的药物浓度。与蛋白质或脂质结合的药物不能透过毛细血管，不能扩散入细胞内，也不能被肾小球滤过，所以影响了药物的分布容积、生物转化和排泄速率。但这种结合是可逆的，与游离药物分子呈动态平衡。

大多数酸性药物可广泛地与血浆蛋白中的白蛋白结合，而碱性药物则结合于血浆中的α1-酸性糖蛋白。亲脂性强的药物与组织蛋白或脂肪组织的亲和力高，结合较强。这种与组织的结合是药物贮积的一种方式，起到长效作用。例如洋地黄毒苷与组织结合后缓慢地释放出游离药物，半衰期可长达 40~50h。某些杀虫剂因高亲脂性，进入人体脂肪组织后几乎不能再分配入水相，因而产生蓄积性毒性。

药物分子中引入烷基、芳环基、卤素等亲脂性基团，会增加与蛋白结合的能力；引入极性基团如氨基、羟基或羧基，会降低亲脂性，降低与蛋白结合的能力。图 2-15 是几类药物的分配系数与蛋白结合常数的关系图。

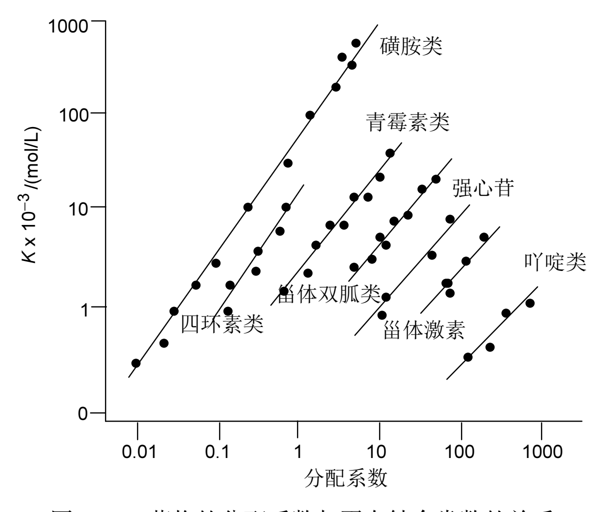


图 2-15　药物的分配系数与蛋白结合常数的关系

由图 2-15 可以看出，药物随着脂溶性的增加，与血浆蛋白的结合作用加大。各条直线相互平行，斜率相近，可用 $\lg K = \lg K_p + 0.9 \lg P$ 这一模型说明对不同系列的药物有不同的数值，其大小等于分配系数为 1 时的结合常数 K。因而可借助分配系数近似地预测与蛋白的结合常数。

图 2-15 中，有代表性的药物系列的方程如下：

$$\text{青霉素类：}\lg K = 0.37 + 1.32 \lg P \quad n = 8, r = 0.97, s = 0.14 \tag{2-47}$$

$$\text{磺胺类：}\lg K = 1.23 + 1.15 \lg P \quad n = 12, r = 0.97, s = 0.17 \tag{2-48}$$

$$\text{甾双胍类：}\lg K = -0.05 + 1.23 \lg P \quad n = 8, r = 0.97, s = 0.11 \tag{2-49}$$

$$\text{甾体激素：}\lg K = -2.57 + 1.65 \lg P \quad n = 4, r = 0.99, s = 0.06 \tag{2-50}$$

方程(2-47)、(2-48)和(2-49)的 $\lg P$ 项系数很相近，提示不同类型的药物与蛋白结核的程度受 $\lg P$ 的影响趋势是一致或近似的，但方程中常数项(即截距)差别很大，可解释为除亲脂性影响药物与蛋白结合外，其他因素如电离特性和氢键等也可能起作用。

蛋白质分子表面有电荷分布，可离解性的药物分子由于静电引力比较容易到达蛋白质分子表面，并相互结合。因静电引力发生的结合比疏水键(产生亲脂-亲脂相互作用)的作用范围大。磺胺类药物在生理 pH 条件下，可部分离解为负离子，后者可与体内的蛋白结合。Goto 等深入研究了降血糖药物磺酰脲与血浆蛋白的结合作用，认为有两个位点结合部位：第一个结合部位取决于疏水性 $\lg P$，第二个是离解性 pK_a，结合常数与疏水性和离解性的关系如下：

$$\lg K = 1.48 + 0.33 \lg P + 0.24 pK_a \quad n = 15, r = 0.95, s = 0.09 \tag{2-51}$$

药物和蛋白分子的结合是在三维空间中实现的，具有立体选择性。例如地西泮的琥珀酸半酯的一对对映体与蛋白质的结合力是不同的，D-异构体强于 L-构型 40 倍。

2.5.6　碱性药物对分布容积和持续时间的影响

分布容积(V_d)反映了药物对组织的亲和力，但由于不同的组织对药物的亲和力差异很大，所以某一药物对一些组织有适度的分布浓度，而对少数组织的分布很多。不同的药物结构在不同组织器官中的分布尚无一般性规律，这仍是药物分子设计的一个盲区。

中性药物随着分配系数的增大而增强穿越细胞膜的能力以及同蛋白和细胞的结合能力，同时也相应地增加药物的分布容积。碱性药物在体内由于部分被质子

化而带正电荷，可与细胞膜上的磷酸负离子形成离子对，结合于细胞膜上，与组织的亲和力较大，所以碱性药物的分布容积较高。图 2-16 表明相同分布系数的碱性与中性药物的分布容积是不同的，碱性药物比相应的中性药物分布容积高。

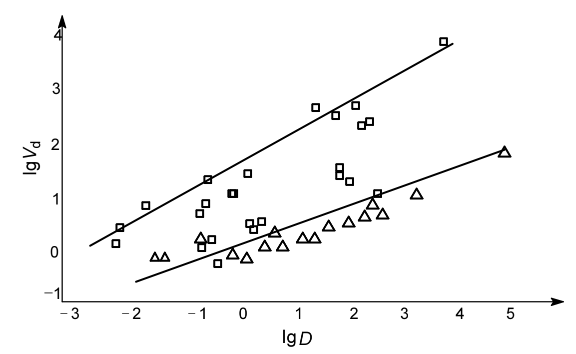


图 2-16　游离药物的分布容积(lg V_d)与分布系数(lg D)的相关性

△ 代表中性药物，□ 代表碱性药物

药物在血浆中的半衰期($t_{1/2}$)与分布容积(V_d)和清除率(Cl)成式(2-52)的关系：

$$t_{1/2} = 0.693 \times V_d/Cl \tag{2-52}$$

即半衰期与分布容积成正比，与清除率呈反比。由于分布容积还与药物的作用时间有关，所以在中性的分子中引入碱性基团，可提高化合物的分布容积。例如，钙通道拮抗剂硝苯地平(nifedipine，27)与氨氯地平(amlodipine，28)的分布系数相同，两者的清除率相差不多，但氨氯地平在 2 位有碱性长链，提高了分布容积，因而血浆消除半衰期延长到 35h，该药物只需一日服用一次[24]。

27　　　　28

将红霉素(erythromycin，29)结构做微小的改动，在大环内加入叔氮原子成阿奇霉素(azithromycin，30)，这个氮原子引入使得分布容积由红霉素的 4.8 L/mg 增加到阿奇霉素的 62 L/mg，而清除率由红霉素的 55 mL/(min・kg)降低到阿奇霉素的 18 mL/(min・kg)，以致血浆的消除半衰期由 3 h 增加到 48 h，而且阿奇霉素的组织半衰期延长到 77 h。总之，由于增加了一个碱性氮原子，阿奇霉素的药代性

质发生了很大变化，每日服用一次，方便了应用。[25]

29　　30

药代动力学的吸收、分布和排泄过程，如果说是在时间和空间上发生的物理状态变化，那么药物代谢则是在体内的化学变化。药物代谢又称生物转化。

2.6　药物的化学结构与生物转化

2.6.1　一般概念

药物和其他外源性物质在体内发生的化学变化，称作生物转化(biotransformation)，也就是狭义的药物代谢(metabolism)。除化学惰性的某些全身麻醉药物和强离解性化合物不会在体内发生代谢转化外，几乎所有药物都在体内有化学变化。

机体代谢药物的目的，是将这些外来物质排出体外，以免受这些物质的侵害和损伤，这是生物进化过程中固定下来的防御机制。但因生物转化是一系列化学反应过程，有些代谢产物或中间体会因有较强的化学反应性能，成为有害物质，机体“好心办成坏事”；当然，药物代谢有时也会产生有益的结果。

由于外源性物质的结构多样性(医药、农药、环境污染物等)，不可能像对内源性物质那样有特异的酶系统催化代谢反应，需要通过比较“多能”的酶系催化机制，处置这些结构多样性的物质。这些酶的催化没有很高的特异性，代谢反应具有共性特征。药物代谢的一般规律是增加水溶性，有利于排出体外。研究药物代谢，对于认识药物的作用机理、药物不良反应的原因、理性药物分子设计等都有重要意义。

2.6.2　药物代谢的两个阶段

药物的体内代谢可分两个阶段，I 相代谢(phase I)和 II 相代谢(phase II)，这是相继发生的两类不同类型的反应。I 相代谢又称功能基化反应(functionalization reaction)，

是在酶的催化下，在药物分子中引入或暴露出极性基团，例如生成羟基、羧基、氨基、巯基等，这些极性基团作为“把手”，可与体内的极性较强的分子相结合，即发生 II 相代谢。II 相代谢又称轭合反应(conjugation reaction)，是在另一些酶系的催化下，将药物分子中的极性基团与体内的成分例如葡萄糖醛酸、硫酸、甘氨酸或谷胱甘肽等经共价键结合，生成极性大、易溶于水和易排出体外的轭合物(conjugates)。

I 相代谢最重要的是氧化反应，还有还原和水解等反应，II 相代谢大都是缩合反应。

2.6.3　氧化反应的重要酶系

2.6.3.1　单氧合酶催化的氧化作用

生物转化中的氧化作用发生在许多器官中，但最重要的是肝脏，肝脏中有许多代谢非特异性酶系，结合在细胞的平滑型内质网(smooth-surface endoplasmic reticulum)上。细胞匀浆后经 100000 *g* 离心沉出颗粒，即微粒体(microsome)，富含有催化氧化反应的酶系，催化如下的反应：

$$R—H + O_2 + NADPH + H^+ \longrightarrow R—OH + NADP^+ + H_2O \qquad (2\text{-}53)$$

该反应为单氧合反应，在底物 R-H 进行双电子氧化的同时，分子氧发生还原性裂解，一个加到底物中，另一个生成水。辅酶 NADPH 供给两个电子。催化该反应的酶系主要有细胞色素 P450 单氧合酶(cytochrome P450 monooxygenase，CYP)和黄素单氧合酶(flavin monooxygenase，FMO)。该氧化还原系统可用图 2-17 表示。

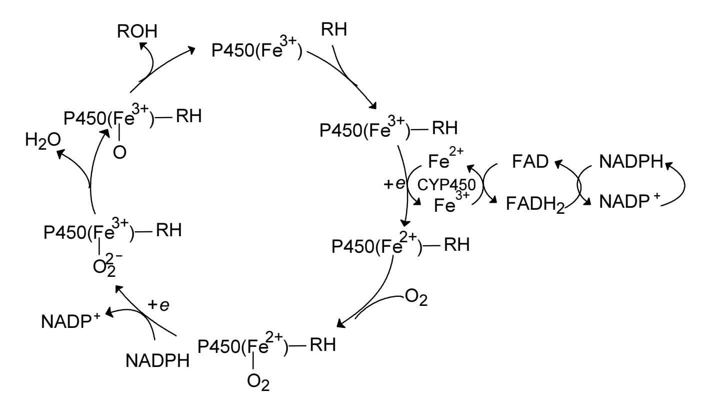
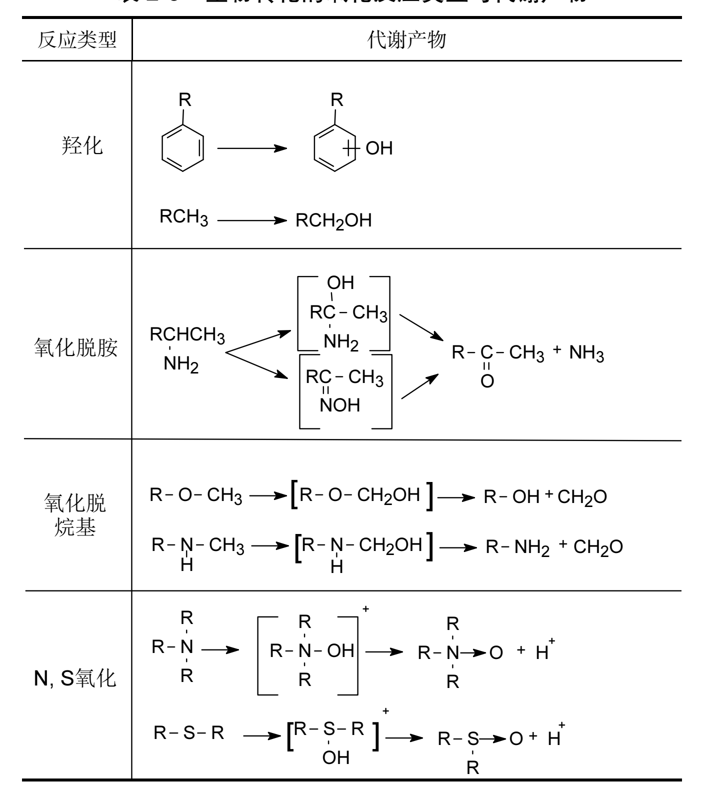


图 2-17　细胞色素 P450 氧化 RH 成 ROH 的过程

图 2-17 的顶端为细胞色素 P450 的静止状态，与底物 RH 形成复合物后经加入电子(由 NADPH 供给)和氧分子等一系列过程，形成关键的活化复合物 $P450(FeO)^{3+}$—RH，该复合物中的$(FeO)^{3+}$进攻底物而完成了氧化过程。复合物的生成取决于底物 RH 的三维结构和 P450 活性中心的拓扑结构，复合物的立体结构

和化学反应性能决定了代谢的位点和代谢物的结构。表 2-3 列出了氧化代谢的反应类型和代谢产物。

表 2-3　生物转化的氧化反应类型与代谢产物



反应类型	代谢产物
羟化	R-苯环 → R-苯环-OH RCH_3 → RCH_2OH
氧化脱胺	$RCH(NH_2)CH_3$ → [$RC(OH)(NH_2)-CH_3$] 或 [$RC(=NOH)-CH_3$] → $R-C(=O)-CH_3 + NH_3$
氧化脱烷基	$R-O-CH_3$ → [$R-O-CH_2OH$] → $R-OH + CH_2O$ $R-NH-CH_3$ → [$R-NH-CH_2OH$] → $R-NH_2 + CH_2O$
N, S氧化	R_3N → [R_3N-OH]$^+$ → $R_3N \rightarrow O + H^+$ $R-S-R$ → [$R-S(OH)-R$]$^+$ → $R_2S \rightarrow O + H^+$

2.6.3.2　细胞色素 P450 单氧合酶

细胞色素 P450 单氧合酶是一个超家族酶系，在人体中至少有 50 种，与药物代谢相关的有四类亚族：CYP1、CYP2、CYP3 和 CYP4。每个亚族又细分为若干亚型，与药物代谢密切的酶系是 CYP2C9，CYP2D6 和 CYP3A4。这三种 CYP 对药物的催化氧化的选择性有所不同。

CYP2C9 代谢多数的非甾体抗炎药，苯妥英钠，华法林和甲苯磺脲等，被代谢底物的特征是有一个氢键的给体，在与氢键的方向为 130°的距离大约 7 Å 处有一疏水性结构，该疏水结构是被羟基化的位置，图 2-18 是 CYP2C9 氧化底物的结构模式图。

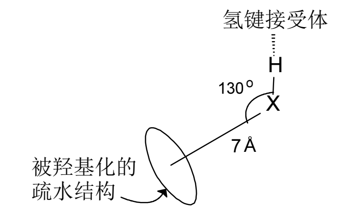


图 2-18　CYP2C9 代谢底物的模式图

被 CYP2D6 代谢的药物有β-阻断剂、三环类抗抑郁药、I 型抗心律失常药，被代谢的底物特征是有一个可被质子化的氮原子，距离 5~7 Å 处为被羟基化的位置。图 2-19 是 CYP2D6 氧化底物的结构模式图。

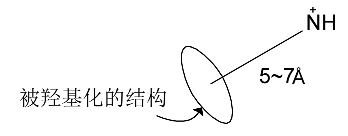


图 2-19　CYP2D6 代谢底物的模式图

被 CYP3A4 代谢的底物结构非常广泛，大约 50%的临床应用药物是由 CYP3A4 催化代谢的。被羟基化的位置为疏水性片段，往往是容易失去氢或电子的原子。例如环孢素 A 的丙烯基，奎尼丁的烯丙基等。红霉素、利度卡因、他莫昔芬、维拉帕米、氨碘酮、特非那定等苄基和烷基的氧化都是经 CYP3A4 催化的。酶与底物的结合是靠疏水相互作用，将活性部位的水分子排挤出去。有序水分子的无序化过程有助于改变卟啉环中铁的自旋状态，促进了形成$(FeO)^{3+}$。然而，3A4 与底物的疏水作用力较弱，所以底物可以移动到活性部位，找到最佳的取向，与$(FeO)^{3+}$发生反应而被氧化。

2.6.3.3　黄素单氧合酶

黄素单氧合酶(FMO)属于微粒体黄素蛋白家族，可以代谢结构多样的有机化合物，反应中需要 NADPH 和分子氧的参与。催化过程分四步进行：FAD 被 NADPH 还原；FAD 中加入分子氧，生成羟基过氧黄素；氧进攻底物中的亲核基团，同时生成 4-羟基黄素；释出水分子和 NADP，恢复成 FMO 的原始状态。图 2-20 为 FMO 的氧化还原步骤。

图 2-20　黄素单氧合酶的催化过程

羟基过氧化黄素的氧化能力不强，所以只能对电荷密度丰富的功能基进行氧化，例如亲核性较强的氮、硫和磷原子，但不能直接氧化碳原子。

2.6.3.4　其他酶系

某些氧化作用还可被微粒体以外的酶系氧化，例如可溶性醇脱氢酶和醛氧化酶，用于催化醇和醛的氧化。黄嘌呤氧化酶主要存在于肝、肠和肾脏中。单胺氧化酶是线粒体酶，催化氧化脱胺反应。

2.6.4　氧化反应

2.6.4.1　烷基的羟化反应

饱和烷烃在体内不会被氧化，但有机分子中的烷基链可被羟基化。羟基化的位置一般是在功能基的α位，烷基链的末端碳原子(ω氧化)以及烷基的倒数第二个碳原子($\omega-1$ 氧化)。氧化作用具有立体选择性，例如地西泮(diazepam，31)的 C3 被羟化，生成 3*S*-(+)-羟基地西泮(32)，所以该 C3 原子为前手性(prochirality) 原子。3*S*-(+)-羟基地西泮的药理活性很强。

31　　32

阿片类镇痛药喷他佐辛(pentazocine)的 *N*-异戊烯基末端的两个甲基处于双键的α位，发生丙烯基氧化。不同的动物种属有立体选择性差异，人主要发生反式甲基氧化，鼠为顺式氧化。

$R_1 = R_2 = H$ 喷他佐辛

$R_1 = H$, $R_2 = OH$ (鼠代谢产物)

$R_1 = OH$, $R_2 = H$ (人代谢产物)

口服降血糖药物氯磺丙脲(chlorpropamide，33)的代谢位点是正丙基的(ω−1)氧化，代谢产物自尿中排出。但甲磺丁脲(tolbutamide，34)只在与苯环相连的甲基发生氧化，而无丁基的氧化，说明苯环上的甲基处于π键的α位，易于氧化，无需在烷基链上发生。

ω−1氧化

33

α氧化

34

非甾体抗炎药布洛芬(ibuprofen，35)的异丁基可有ω和(ω−1)氧化。

ω氧化

ω−1氧化

35

抗炎药罗非昔布(rofecoxib，36)为选择性 COX-2 酶抑制剂，其代谢位点是内酯氧原子的α位，生成α-羟基不饱和内酯(37)，进一步氧化成马来酸酐(38)，后者多分布于心肌，引起不良反应[26]。

36　　37　　38

2.6.4.2　脂环的羟化反应

饱和脂肪环容易发生氧化，例如四氢萘的氧化主要发生在脂肪环上，不发生在芳环上。

脂环化合物如环己基的羟基化可有顺-反异构的区别，例如口服降血糖药物醋磺己脲(acetohexamide，39)的主要代谢产物是 4*E*-羟基化合物，也有较少的 4*Z*、3^E 和 3*Z*-羟基化合物。

39

食欲抑制药物丙己君(propylhexedrine，40)可代谢成 4*E* 和 4*Z*-羟基化合物。

40

2.6.4.3　芳环的羟化反应

芳香环被 CYP 酶氧化生成酚羟基化合物，反应是经过环氧化物的机理，因为产物还有反式二醇或环氧化物，经谷胱甘肽开环，生成硫醚氨酸(mercapturic acid，41)。

41

在一般情况下芳烃环氧化物重排成酚，但有时伴有另一种转位反应，称作 NIH 转位(NIH shift)[21]。例如 4-氘代苯甲醚代谢成 4-羟基苯甲醚和 3-氘代-4-羟基苯甲醚，后者是经过 NIH 转位生成的。

转位反应首先生成二氢二酮，经互变异构芳香化时，往往保留氘原子，是因为氘的同位素效应。H^-或 D^-的转位程度取决于中间体两性离子的正电荷的稳定性，若碳正离子的电荷被离域化而趋稳定，则易直接失去 H^+，无 NIH 转位。

上式中 R 若无未偶电子对，不能稳定碳正离子，则发生转位。

芳环氧化生成的中间体环氧化物是强亲电试剂，可与体内生物大分子中的亲核基团反应，例如与蛋白质的游离氨基发生亲核取代反应，因而产生毒性；与 DNA

的反应，会引起基因突变或致癌作用。例如二甲基苯并蒽(42)的致癌作用是由于 K 区的 5，6-位双键被环氧化，进而与 DNA 反应。

DNA　烷化产物

42

抗炎药物艾瑞昔布(imrecoxib，43)的代谢产物是苯环上的甲基氧化成羟甲基，后者进而氧化成羧基，这两个代谢产物仍有抗炎活性。[27]

43

药物分子中的苯环若无取代基时，羟化的主要位置在对位。例如抗癫痫药苯巴比妥(phenobarbital，44)，降血糖药苯乙双胍(phenformin，45)和抗炎药保泰松(phenylbutazone，46)的代谢氧化，均于 4 位发生羟基化。

44

45

46

苯妥英(phenytoin，47)的两个苯环只有一个发生 4-羟基化，从而使 C_5 成为手

性碳，人体代谢物中 90%为 *S*-(−)-5-(4-羟基)化合物。

人体代谢

47

2.6.4.4 烯烃的氧化反应

CYP 可催化碳-碳双键加氧成环氧化物。卡马西平(carbamazepine，48)代谢成 10, 11-环氧化物(49)，后者有强抗惊作用。实验表明卡马西平的抗癫痫作用是在体内经环氧化而代谢活化的。抗抑郁药普罗替林(protriptyline，50)和环苯扎林(cyclobenzaprine，51)的Δ^{10}双键的环氧化也是制药的代谢位点。

环氧化 环氧化

48 49 50 51

己烯雌酚(diethylstilbestrol，52)的主要代谢产物是双键的环氧化，代谢产物是亲电试剂，具有毒性。黄曲霉毒素 B_1(aflatoxin B_1，53)分子中的二氢呋喃环的双键未参与共轭，为孤立双键，被 CYP 代谢成环氧化物，该亲电性基团与 DNA 的亲核基团结合，是致癌的分子机理，53 是很强的致癌物，可引起肝癌。

52

53

2.6.4.5　胺的氧化反应

有机含氮化合物被肝微粒体酶催化氧化，代谢作用多样，产物很多，常分为*N*-脱烷基化、氧化脱胺和 *N*-氧化作用。*N*-脱烷基化和氧化脱胺是一个过程的两个侧面，均导致碳-氮键断裂。该过程的前提是与氮相连的碳原子上应连接有氢原子(即α氢)，该α氢被氧化成羟基，成为不稳定的中间产物偕羟胺，随即裂解成脱烷基胺和羰基化合物。

β受体阻断剂普萘洛尔(propranolol，54)的脂肪胺侧链会发生氧化脱异丙基和氧化脱氨，脱氨后进一步氧化成羧酸。

54

丙咪嗪(imipramine，55)经氧化代谢脱去一个甲基，生成地昔帕明(desipramine，56)，药理活性强于丙咪嗪。

55　56

抗麻风病药物氨苯砜(dapsone，57)及其乙酰化合物的代谢产物是 *N*-羟基化合物。

57

芳香伯胺和含氮芳杂环如吡啶等不会发生碳-氮键断裂，而是 *N*-氧化作用。

环磷酰胺(cyclophosphamide，58)的氧化代谢产物是抗癌作用的活性体。该代谢活化的关键步骤是 CYP 催化 C_4发生羟基化，生成α-羟基磷酰胺，*N*-脱烷基开

环成醛化合物，再经消去反应，生成 *N*,*N*-双-(2-氯乙基)磷酰胺酸(59)和丙烯醛，前者是代谢活化的抗癌成分。所以，环磷酰胺是生物前体药物。

58

59

2-乙酰氨基芴(2-acetaminofluotene，AFF，60)代谢生成 *N*-羟基 AFF，经 II 相代谢反应生成 *O*-硫酸酯，硫酸酯是良好的离去基团，形成强亲电试剂(61)，因而有致癌和致突变作用。

60

61

2.6.4.6　醚的 *O*-脱烷基反应

含有醚基的药物 C—O 键可发生 *O*-脱烷基作用。其过程是在 CYP 催化下α-碳羟基化后 C—O 键断裂生成醇或酚和羰基化合物。甲基以甲醛形式最容易脱去。烷基链较长时α-碳氧化较慢，常发生ω或ω–1 氧化。

烷氧基的 C—O 键断裂常使药理活性增高。例如非那西丁(phenacetin，62)脱乙基生成解热镇痛作用更强的对乙酰氨基酚(paracetamol，63)，临床上乙酰氨基酚已经完全代替了非那西丁。可待因(codeine，64)发生 *O*-去甲基化生成吗啡(morphine，65)，是可待因有镇痛和成瘾毒性的原因。

62　63　64　65

精神振奋药 3,4-亚甲二氧基苯异丙胺(66)发生 *O*-脱烷基化生成儿茶酚胺类化合物(67)，是神经递质模拟物。

66　67

苯环上的甲氧基去甲基后生成酚羟基容易发生 II 相代谢而被排出，降低了药物的消除半衰期。为了防止 *O*-去脱甲基化，可用二氟甲氧基代替甲氧基，氟元素的高电负性降低了碳原子的电荷密度，可提高代谢稳定性。H^+/K^+ATP 酶抑制剂泮托拉唑(pantoprazole，68)含有二氟甲氧基就是一例。

68

2.6.4.7　含硫化合物的氧化反应

含二价硫原子药物的氧化代谢有三种：*S*-脱烷基化，脱硫和 *S*-氧化，前两种代谢是碳硫键断裂，后者提高硫的氧化态。抗肿瘤药物 6-甲硫嘌呤(6-methylmercaptopurine，69)和镇静药美西妥拉(methitural，70)的代谢作用是 *S*-脱甲基化；2-苄硫基-3-三氟甲基苯甲酸(71)的代谢是 *S*-脱苄基化。

69　70　71

C＝S(thiono)代谢成羰基 C＝O 称作脱硫作用，例如硫喷妥(thiopental，72)脱硫生成戊巴比妥(phenobarbital，73)。杀虫药对硫磷(parathion，74)代谢成对硝基

苯膦酸二乙酯(75)。

72 73 74 75

S-氧化最常见的是硫醚氧化成亚砜。例如 H2 受体阻断剂西咪替丁(cimetidine，76)氧化代谢生成相应的亚砜，该亚砜的硫原子是手性中心。

76

抗精神病药物硫利达嗪(thioridazine，77)的 3-甲硫基被氧化成亚砜基，生成美索达嗪(mesoridazine，78)，后者的药理活性比硫利达嗪高一倍，这是代谢活化的一个实例。含亚砜基的药物可氧化代谢成砜，例如免疫抑制剂奥昔舒仑(oxisuran，79)代谢成砜。

77 78 79

PPARγ 受体激动剂曲格列酮(troglitazone，80)临床曾用于治疗 2 型糖尿病，但应用过程引起肝脏毒性，已终止使用。毒性是因代谢产物所致。曲格列酮可被 CYP3A4 催化氧化，硫原子生成亚砜，开环生成有反应活性的α-酮基异氰酸酯和次磺酸(sulfenic acid)，二者均为强亲电试剂，引起肝脏毒性[28]。

:Nu = 蛋白质中亲核试剂

80

2.6.4.8　其他氧化作用

酚羟基可被 CYP3A4 作单电子氧化，生成自由基，引起与生物大分子的链反应。例如上述罗格列酮的酚羟基被氧化成自由基，单电子转移生成邻位半醌，为亲电试剂，与亲核基团反应(a)；也可生成不稳定的半缩酮中间体，开环生成对醌(b)。

2.6.5　还原反应

哺乳类动物代谢外来物质的主要途径是氧化反应，但也会发生还原反应，特别是对含有羰基、硝基和偶氮的化合物，生成相应的羟基和氨基，代谢产物一般提高了极性和化学反应性，有利于后续的 II 相轭合反应。

2.6.5.1　羰基的还原

许多药物经氧化代谢，如氧化脱胺生成酮，它不会进一步氧化，而是可以还原成仲醇，醇羟基与葡萄糖醛酸或硫酸发生轭合反应。醛可还原成伯醇，催化羰基还原反应的酶是肝脏和其他组织中的可溶性醛酮还原酶，这些酶有相似的物理化学性质，反应需要辅酶 NADPH 供给电子。应当指出，醛氧化成酸比还原成醇的反应容易进行。

酮的还原有立体特异性。R—(CO)—R′的羰基碳是前手性碳，因而还原反应可能有两个立体异构体。例如苯乙酮(81)被兔肾还原酶催化，主要生成 *S*-(–)-*α*-甲基苄醇(82)。*S*-(+)-美沙酮(methadone，83)还原成 3*S*,6*S*-(–)-美沙醇(84)。

81　82　83　84

2.6.5.2　硝基及偶氮化合物的还原

还原硝基的酶是依赖于 NADPH 的微粒体硝基还原酶及可溶性硝基还原酶。硝基及偶氮基还原过程的中间体为亚硝基及羟胺，犹如有机还原反应过程。羟胺毒性大，可致癌和细胞毒，也是引起高铁血红蛋白血症(methemoglobinemia)的原因。例如 4-硝基喹啉-1-氧化物(85)还原成羟胺化合物，是致癌所在。硝西泮(nitrazepam，86，R=H)和氯硝西泮(clonazepam，86，R=Cl)的硝基被代谢还原成相应的氨基化合物。

85　　86

氯霉素(chloramphenicol，87)的硝基在肝脏中不会被还原，但经胆汁排入肠中，被肠中菌丛还原成氨基。

肠菌丛

87

硝基呋喃类抗菌药的代谢还原产物，引起呋喃环开环而失去活性。

偶氮基还原成氨基是由依赖 NADPH 的细胞色素 C 还原酶催化，首先生成肼基-NH-NH-，再还原裂解成伯胺。例如百浪多息(prontosil,88)还原成有抗菌活性的氨苯磺胺(sulfonamide，89)。

88　　89

2.6.6　水解反应

酯和酰胺可被酯酶或酰胺酶催化水解成酸、醇和胺，水解产物的极性强于酯和酰胺。酯酶和酰胺酶的特异性不高，分布于血浆、肝、肾和肠中。阿司匹林(aspirin，90)在体内水解成水杨酸是酯酶水解的典型例子。氯贝丁酯(clofibrate，91)在血浆中迅速水解成相应的游离酸氯贝酸(clofibric acid，92)，后者有降血脂作用。

90　　91　　92

止泻药地芬诺酯(diphenoxylate，93)水解成地芬诺酸(diphenoxylic acid，94)，其止泻作用比原药强 5 倍，为代谢活化的实例。

93　　94

酶水解作用有立体异构的选择性。如奥沙西泮(oxazepam)的琥珀酸单酯，*S*(+)型易水解，中枢神经作用因之较强，*R*(–)型不易水解，因而作用慢。

酰胺的水解速率比相应羧酸酯低。如普鲁卡因胺(procainamide，95)比普鲁卡因(procaine，96)的水解速率慢。

95　　96

麻醉药丙泮尼地(propanidid，97)的分子中有酯键和酰胺键，体内只水解酯键。

不水解　　水解

97

异烟肼(isoniazid，98)在体内先发生 *N*-乙酰化，后水解烟酰基，生成的乙酰肼可引起肝脏中毒。

98

致畸药沙利度胺(thalidomide，99)含有谷氨酰亚胺及邻苯甲酰亚胺两个亚胺基结构，容易发生水解作用的是邻苯二甲酰亚胺键。

99

除羧酯酶和酰胺酶外，还有磷酯酶，可水解单磷酸芳酯或烷酯。

前药(prodrug)常常利用体内的水解酶，将本来没有生物活性物质，经酶性水解(有时化学水解)，生成有活性的物质，从而赋予药物以优良的药剂学、药代动力学性质。关于前药原理和在药物设计的应用，将于第 9 章讨论。

2.6.7　轭合反应

在 1 相反应中，药物分子中因产生或暴露出极性的功能基团，降低了分子的亲脂性，为发生 II 相代谢反应准备了条件。II 相反应是药物或其 I 相代谢物与内源性的极性分子发生共价连接，使药物的极性更加提高，以利于经肾脏和(或)胆汁的排泄。II 相反应是轭合反应，也是合成反应。参与轭合的物质是内源性分子，如葡萄糖醛酸、硫酸、甘氨酸和谷胱甘肽等。II 相轭合反应分两步进行：首先是内源性物质的活化，变成活性形式，然后经转移酶的催化与药物或 I 相代谢物结合起来。参与轭合的基团是羟基、羧基、氨基或巯基。轭合反应的历程是在底物的邻近处，携带有被转移的内源性分子的辅因子与酶结合，并转移到底物分子上。

2.6.7.1　葡萄糖醛酸的轭合反应

葡萄糖醛酸化是药物代谢中轭合反应的最常见的方式。D-葡萄糖醛酸很容易在体内生成，可与多种功能基反应。轭合的基团是醛基与药物的羟基形成苷键，保留游离羧基(pK_a 3.2)的可离解性以及多羟基的存在，以利于溶于水和排出体外。药物的葡醛酸轭合物一般没有生物活性。

轭合过程是，葡萄糖醛酸先生成尿苷 5′-二磷酸-α-D-葡醛酸(uridinediphosphate glucuronic-acid，UDPGA，100)，UDPGA 活化了葡醛酸，经转移酶与药物轭合。

COOH, OH, O, OH, OH, O—P—O—P— uridine —HXR / UDP-葡醛酸转移酶→ COOH, O, XR, OH, OH, OH + UDP　X = {—O—，—NH—，—O—C(=O)—，—S—}

100

表 2-4 列出了药物与葡萄糖醛酸的轭合位置。

表 2-4　葡萄糖醛酸与药物轭合的部位

类型	功能基	药物	结构和轭合位点
羟基	伯醇	三氯乙醇	Cl_3C-CH_2-OH ↙
	仲醇	奥沙西泮	OH ↙
	叔醇	叔丁醇	$(CH_3)_3C-OH$ ↙
	酚基	己烯雌酚	OH ↙
	烯醇	4-羟基香豆素	OH ↙
羧基	芳羧基	4-羟基苯甲酸	HO-C_6H_4-C(=O)-OH ↙
	脂羧基	2-乙基戊酸	$H_7C_3-CH(C_2H_5)-C(=O)-OH$ ↙

续表

类型	功能基	药物	结构和轭合位点
氨基	芳胺	磺胺	
	羧酰胺	甲丙氨酯	
	磺酰胺	磺胺噻唑	
巯基	硫醇和二硫化物	双硫仑	

当药物与葡萄糖醛酸轭合物的相对分子质量较大，例如超过 300 时，往往不从尿中排泄，而是经胆汁排入肠中，从粪便排出。也可能又被肠中水解酶水解，生成原药(或其 I 相代谢物)又被吸收，这就是肝肠循环(enterohepatic circulation)。新生儿肝脏的葡萄糖醛酸转移酶活性很低，因而药物或内源物质如胆红素在体内容易蓄积，导致中毒。

药物或其 I 相代谢产物的葡萄糖醛酸化增加了水溶性，易于排出体外，因而降低了活性。但有些药物与葡醛酸轭合后仍保持活性，甚至强于原药，例如吗啡(101)的 II 相代谢产物吗啡-6-葡醛酸苷(102)的镇痛活性比吗啡强 45 倍[29]。

101　　102

2.6.7.2　硫酸的轭合反应

药物在体内与硫酸发生轭合反应少于葡萄糖醛酸，这是因为哺乳类缺乏硫酸源的缘故。轭合反应为单酯化，不发生双酯化，以保留一个电荷维持高水溶性，减少毒性。然而，*N*-羟胺和 *N*-酰羟胺的轭合物因 *O*-硫酸酯为良好的离去基团，生成正碳性亲电试剂，导致毒性增加。

形成硫酸轭合物的过程分三步：①无机硫酸盐经活化，生成腺苷 5′-磷酰硫酸盐(APS)；②再活化生成 3′-磷酸-腺苷-5′-磷酰硫酸盐(PAPS)；③PAPS 的硫酸基转到底物[30]。

含酚基的药物易被硫酸化，如β-肾上腺能抑制剂——支气管扩张药沙丁胺醇(salbutamol，103)和雌酮(estrone，104)的酚基与硫酸轭合：

103　　104

初生婴儿缺乏葡萄糖醛酸化机制，多以形成硫酸轭合物为代谢途径。例如对乙酰氨基酚(acetaminophen，105)，成人主要是葡醛酸化，新生儿则为 *O*-硫酸化：

105

猫对外来物质的 II 相代谢，主要是硫酸化。

2.6.7.3 乙酰化反应

伯胺的轭合反应主要是乙酰化，乙酰化使毒性降低。乙酰化的过程如下：[31]

$$CH_3\underset{\underset{O}{\|}}{C}-S-ACo \xrightarrow[NAT \;\to\; CoASH]{N\text{-乙酰转移酶}} NAT-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_3 \xrightarrow[RNH_2 \;\to\; NAT]{} RNH-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_3$$

由于乙酰化产物未增加分子的极性，因此对于自肾脏排泄的途径未起到增强作用。芳香伯胺大多都被乙酰化，如对氨基水杨酸(PAS，106)、氨苯砜(dapsone，107)。芳香硝基化合物先被还原，再乙酰化，如氯硝西泮(clonazepam，108)。

106　　107　　108

2.6.7.4 甲基化反应

甲基化在药物代谢的轭合反应中较少见，但在内源性物质的生物合成中是重要的。药物代谢甲基化后，水溶性一般不增高，但活性往往降低。然而去甲肾上腺素甲基化生成肾上腺素，去甲吗啡生成吗啡，活性则增高。叔胺甲基化生成季铵盐，有利于水溶解和排泄。如美沙酮(methadone，109)生成 *N*-甲基美沙酮(110)。

109　　110

甲基化过程分两步：①合成辅酶 *S*-腺苷甲硫氨酸，以活化甲基；②在甲基转移酶催化下甲基被转移。

甲硫氨酸　　甲硫氨酸-腺苷转移酶

甲基转移酶　　$RX-CH_3$

S-腺苷-高亮氨酸

2.6.7.5　与甘氨酸、谷氨酰胺的轭合

羧酸类化合物，尤其是芳香酸，可与极性的氨基酸如甘氨酸或谷氨酰胺轭合，这种 II 相代谢是与葡醛酸化和硫酸化相竞争的反应。氨基酸轭合的过程是：羧酸与辅酶 A 和 ATP 反应，生成活化的辅酶 A 酯，后者再与氨基酸反应：

R = H　甘氨酸轭合物

$R = CH_2CH_2CONH_2$　谷氨酰胺轭合物

芳香酸主要与甘氨酸轭合，生成马尿酸的衍生物，由尿中排出。苯乙酸类药物例如芬氯酸(fenclofenac，111)主要与牛磺酸(taurine，112)结合。

111　　112

2.6.7.6　与谷胱甘肽或硫醚氨酸的轭合

哺乳动物体内含有谷胱甘肽(glutathione，GSH)，它是很强的亲核试剂，可与许多有害的亲电化合物发生反应，起到解毒作用。亲电性化合物存在或进入体内，可与 DNA、RNA 或蛋白质分子中的亲核基团结合，会引起细胞坏死、造血障碍、致癌、致突变或致畸等作用。谷胱甘肽分子中的巯基为强亲核性基团，可以同亲电性基团结合，保护细胞免受损伤。谷胱甘肽与亲电性基团的结合并转变成硫醚氨酸轭合物(mercapturic acid conjugate)，过程如下：

谷胱甘肽
谷胱甘肽*S*-转移酶
亲电试剂 E
谷氨酸
半胱氨酰甘氨酸
甘氨酸
N-乙酰化酶
乙酰辅酶A
辅酶A
硫醚氨酸衍生物

与谷胱甘肽发生亲核取代反应的亲电性基团有：卤化物、硫酸酯、磺酸酯、有机膦酸酯等，芳环上缺电子的化合物，环氧化合物，α, β-不饱和系统与谷胱甘肽发生迈克尔加成。

2.6.8　影响药物代谢的因素

药物和外源性物质经 I 相和 II 相途径可生成多种代谢产物，生成的相对水平取决于酶的浓度和活性，而药物代谢的程度和速率影响药理和毒副作用。如果某药物的代谢速率降低，会使药物的作用强度增加，作用时间延长；而代谢消除作用的减低也会因药物的蓄积使毒性增加。反之，代谢速率增高会使药物作用强度减弱，作用时间缩短，药效降低。影响药物代谢的因素很多，例如年龄、动物的种属和微生物株系、遗传因素、性别、酶的诱导或抑制等。

2.6.8.1　年龄

年龄引起的药物代谢差异在新生婴儿表现最明显，主要是因为酶系的不完善造成代谢能力低下。动物实验表明，新生动物的药物代谢机制不完善，但随着个体生长能够迅速增加，一两个月后臻于完善，例如给新生和成年小鼠等剂量的催眠药的睡眠时间显著不同。

新生婴儿的氧化酶和轭合酶(例如葡醛酸化)活性也比成年人低。例如甲磺丁脲被细胞色素 P450 氧化代谢，婴儿和成年人差别很大。成人的半衰期为 8h，婴儿的则长达 40h。

老龄人的药物代谢酶活性逐渐衰减，造成药物代谢的能力降低。特别是经肝微粒体酶代谢的药物如苯巴比妥和对乙酰氨基酚等因代谢减慢，血浆中半衰期增长。

2.6.8.2　种属和株系的差异

不同的动物的种属对药物代谢的方式可能相同，也可能相差很大；即使同一种属动物，因不同的族系也会使生物转化有明显区别，特别表现在药物的氧化代谢的种属差异，这对新药研究判断药物在体内的命运非常重要。例如，人、家兔和豚鼠对苯异丙胺(amphetamine，113)的代谢途径的是氧化脱胺，生成苯丙酮(114)；而大鼠的代谢途径主要是芳环的羟化，生成对羟基苯异丙胺(115)。

CH_3 人 CH_3 大鼠 CH_3
O NH_2 HO NH_2

114　113　115

苯妥英(116)的人体代谢产物是 *S*-(–)-对羟基苯妥英(117)，在犬体内的氧化代谢产物是 *R*-(+)-间羟基苯妥英(118)，说明在苯环上不仅羟化的位置不同，而且羟化发生在两个不同的前手性苯环上。

H N OH 人 H N 犬 OH H N
O N O O N O O N O
H H H

117　116　118

轭合反应也因种属差异生成不同的产物，猫类体内缺少葡醛酸转移酶，酚类的结合反应只能硫酸化代谢。反之，猪不能进行硫酸化，主要经葡醛酸化途径。苯甲酸类的代谢，多数动物是与甘氨酸或谷氨酸结合，而鸟类是与鸟氨酸结合；人和灵长类动物对苯乙酸类的结合是经甘氨酸和谷氨酰胺两个途径，而其他动物如兔和鼠的代谢，只经甘氨酸结合。

2.6.8.3　遗传因素

人类对药物的代谢有显著的个体差异，主要原因是遗传因素。例如抗结核病药物异烟肼的 *N*-乙酰化作用，个体间差别很大，分为快速和慢速反应两种，这种差异是由于人种的不同，肝脏的 *N*-乙酰转移酶活性不同。例如因纽特人和东方人种的 *N*-乙酰转移酶活性很高，异烟肼被快速乙酰化，而埃及人则属慢乙酰化人种，这种差别会造成异烟肼治疗结核病的不同效果：快速乙酰化会使疗效降低，而慢速者用同剂量时毒副作用较大。遗传因素也会使苯妥英、保泰松、双香豆素和去甲替林等的氧化代谢速率不同。

药物基因组学(pharmacogenomics)是在基因水平研究序列的多态性与药物效应多样性之间关系的学科，通过研究基因、药物和服用后的反应(药效和不良反应)的关系，指导合理用药,提高用药的安全性和有效性，避免不良反应，对个性化药物治疗(personalized medicine)有很大的意义。

2.6.8.4 性别差异

性别对药物代谢的方式和速率有不同影响。成年雄性大鼠代谢药物的速率快于雌性大鼠，例如氨基比林的 *N*-脱甲基化，环己烯巴比妥的氧化和邻氨基酚的葡醛酸化，均有性别差异。微粒体氧化作用受性激素特别是雄性激素的调控，雄性激素的同化代谢可提高药物的代谢作用。男女人群对烟碱和阿司匹林的代谢有性别不同，但并非所有药物的代谢都有性别差异。

2.6.8.5 酶的诱导

药物代谢酶可被许多药物、杀虫剂或有机物激活，该过程称作酶的诱导，发生的原因是由于增加了该酶系的新合成量。这种诱导作用往往增加药物代谢速率，降低药物的作用和持续时间。酶诱导剂还会提高酶对该诱导剂本身的代谢速率，表 2-5 列举了一些诱导剂被影响的药物。

表 2-5　药物对人体代谢酶的诱导作用

酶诱导剂	被影响的药物
巴比妥类(barbiturates)	香豆素抗凝血药，苯妥英，氢化可的松，睾丸素，胆红素，维生素 D，对乙酰氨基酚，口服避孕药
格鲁米特(glutethimide)	格鲁米特，华法林
保泰松(phenylbutazone)	氨基比林，氢化可的松
甲丙氨酯(meprobamate)	甲丙氨酯
乙醇(ethanol)	苯巴比妥，甲磺丁脲
利福平(rifampicin)	利福平，环己烯巴比妥，甲磺丁脲，香豆素类抗凝血药，口服避孕药，美沙酮，地高辛
苯妥英(phenytoin)	氯化可的松，去甲替林，口服避孕药
灰黄霉素(griseofulvin)	华法林
卡马西平(carbamazepine)	卡马西平，华法林，苯妥英

同时服用两种以上的药物常常因为诱导作用引起药物-药物相互作用。例如临床上发现苯巴比妥和华法林之间，由于苯巴比妥的诱导使酶活性提高，增加了华法林的代谢，因而降低了华法林的抗凝血作用。因此，患者在用华法林进行抗凝

治疗时，服用苯巴比妥要注意调整华法林的剂量。服用口服避孕药的妇女会因同时应用了苯巴比妥或利福平而导致避孕失败，这是因为苯巴比妥或利福平诱导药酶，加速了对避孕药的代谢作用。

酶诱导剂也会提高对内源性化合物的代谢。例如苯巴比妥可增高人体对氢化可的松、睾酮、维生素 D 和胆红素的代谢，癫痫病人长期服用苯巴比妥或苯妥英，会增强维生素 D_3 的代谢，引起骨软化症。苯巴比妥还会诱导葡醛酸转移酶，从而增加了胆红素与葡醛酸的轭合作用，因此，可用于治疗新生儿的高血胆红素症。

苯并[*a*]芘(benzo(*a*)pyrene)是细胞色素 P450 酶的强效诱导剂。吸烟者因摄入苯并[*a*]芘，诱导了 P450 酶活性，使氧化作用增强。吸烟还会加快喷他佐辛和丙氧吩的代谢。

2.6.8.6　酶的抑制

许多药物或外源性物质可抑制细胞色素 P450 的活性，导致临床用药发生药物相互作用。某些药物抑制 CYP 活性，干扰了该酶对其他药物的代谢，使半衰期和清除率发生改变，疗效降低或产生不良反应。例如同时服用红霉素和特非那定，因红霉素抑制 CYP 3A4 对特非那定的氧化代谢，致使后者体内浓度异常增高，引起心脏的 QT 波延长和心律失常。

了解药物对常见的药物代谢酶(依次为 3A4，2D6，2C8-10，1A2 和 2C19 等)的抑制作用对于指导临床用药非常重要，在研发新药的早期就应测定候选化合物对 CYP 谱的抑制作用，避免药物对 CYP 呈现抑制作用。即使对 CYP 有作用，也应远远高于对靶标作用的浓度。

2.7　药物的化学结构与消除过程

机体对药物等外源性物质及其代谢产物的消除，主要途径是经肾脏和胆汁，自尿和粪便中排出。

2.7.1　药物经肾排除

肾脏的排泄过程受三个环节的影响：肾小球的过滤，近端小管的主动分泌，远端小管的重吸收作用。肾脏是由许多肾单位(nephron)构成，每个肾单位是由肾小球(glomerulus)、近端小管(proximal tubule)、细尿管袢(loop of henle)、远端小管(distal tubule)和集合管(collecting duct)构成。药物经肾脏从尿中排出。

2.7.1.1 肾小球的过滤

形成尿的第一步是肾小球过滤，血液经肾过滤的速率大约为 1 L/min，所以在 5min 内全部血液经过了肾小球过滤。血液中与血浆蛋白结合的不被肾小球滤过，只有游离状态的药物能够滤出。由于游离态和结合态药物在血液中呈动态平衡，药物不断地在肾小球中过滤。过滤的速率取决于游离药物的浓度和肾小球的滤过率，肾小球的过滤一般没有特异性。

2.7.1.2 近端小管的主动分泌

近端小管上皮细胞对药物有主动分泌的功能。构效关系研究表明，主动转运的速率与被分泌化合物的分配系数相关。例如，羧苯磺胺类化合物的肾脏相对清除率 Cl_R 与分配系数 $\lg P$ 有关：

$$\lg Cl_R = -0.242(\lg P)^2 - 0.035 \lg P + 0.578 \quad n=9, r=0.98, s=0.16 \tag{2-54}$$

主动分泌过程遵循酶动力学规律，可用米氏方程(2-55)描述：

$$\text{分泌速率} = V_{max} \times c/(K_m + c) \tag{2-55}$$

式中，V_{max} 是载体蛋白完全饱和时的最大转运作用；K_m 是米氏常数，它是载体对药物亲和力的特征值，是载体被结合一半时的药物浓度；c 是血液中药物浓度。

大多数经主动分泌的药物在治疗剂量下，血药浓度会明显地比 K_m 值小，亦即 $K_m + c \approx K_m$。在这种情况下，方程(2-55)变成了假一级方程。V_{max} / K_m 值是个常数，这时的分泌速率与血药浓度呈正比：

$$\text{分泌速率} = V_{max} \times c/K_m \tag{2-56}$$

当 $c \gg K_m$ 的极端条件下，载体分子完全被饱和，此时分泌与血药浓度无关，成为恒定的速率。

某些有机阳离子和阴离子可以被主动分泌，分别为两种独立的转运系统，但都需要细胞供给能量，因此会因缺氧或代谢中毒而停顿。若有两种以上的阴离子或阳离子同时参与转运，可发生竞争作用，导致竞争抑制。例如酸性药物丙磺舒(probenecid，119)可阻止青霉素的主动分泌，从而延长青霉素在体内的存留时间。弱酸性药物在数量上虽然比弱碱性药物少，但已证明对弱酸性药物的主动分泌，是由某种特定蛋白所运载。被转运的物质一般有如下述的结构(120)。

HOOC–C$_6$H$_4$–SO$_2$–N(C$_3$H$_7$)$_2$

119

R–C(=O)–N(X)–(CHR')$_n$–COOH 或SO$_3$H, SO$_2$NH$_2$

X = H, CH$_3$; n = 1~5

120

在与载体分子相互作用时，这些酸性基团(羧基、磺酸基或磺酰胺基)及羰基是必需的基本要求，R 和 R′可以是脂肪烃基或芳香烃基，X 为 H 或 CH_3，n＝1~5。这个通式虽然适用于大多数主动分泌的阴离子(即弱酸性药物)，但有许多例外，如水杨酸可被主动分泌，不属上述结构类型。

2.7.1.3　远端小管的重吸收

远端小管是对肾小球过滤和近端小管分泌的药物进行重吸收，重吸收作用可经主动转运或被动扩散的机制。不带电荷的药物分子穿越肾小管上皮细胞的脂质膜，又回到血液中，过程的推动力是肾小管腔与其周围毛细血管之间药物的浓度差，也与尿液的 pH 和体积有关。药物分子的脂溶性与 pK_a 和尿液的 pH 决定重吸收的速率和程度。极性分子和带电荷的化合物一般不被重吸收，自尿中排出。药物的代谢产物极性往往比原药增大，容易自肾脏排泄，原因之一是降低了重吸收作用。

2.7.2　药物经胆汁排除

药物经胆汁排除是重要排泄途径，可以经被动扩散或主动转运机制。经胆汁排泄的药物或其代谢物一般具有两种物理化学性质：①具有极性基团，即阴或阳离子；②较高的分子量。如果原形药的分子量较大，或者分子量虽小，但与葡萄糖醛酸或谷胱甘肽形成轭合物，相对分子质量超过 300 并且为极性分子时，往往易从胆汁排入肠中。例如吲哚美辛、苯异丙胺、吗啡和洋地黄毒苷等。由于主动转运的机制，载体蛋白有饱和性和同类物质间的竞争性，呈现竞争抑制作用。

药物或其代谢物由胆汁排到肠腔后，直接从粪便排出，或在肠酶的作用下，轭合物被水解，重新被小肠吸收，经肝脏再进入循环(肝肠循环)。己烯雌酚和氯霉素的葡醛酸轭合物，可被β-葡醛酸酶水解成原药，又被吸收。

参 考 文 献

[1] 郭宗儒. 药物分子设计的策略: 分子的宏观性质与微观结构的统一. 药学学报, 2008, 43: 227-233

[2] Ariens E J. Modulation of pharmacokinetics by molecular manipulation//Ariens E J. Drug Design. Vol II. New York: Academic Press, 1971, 1

[3] Mager P P. Zur Optimierung von bioaktiven Leitstrukturen, I. Pharmazie in unser Zeit, 1988, 17:

106-126
[4] Wilkinson G R. Pharmacokinetics: the dynamics of drug absorption, distribution, and elimination// Hardman J G, Limbird L E, Gilman A G. Goodman & Gilman's Pharmaco- logical Basis of Yherapeutics. 10th Ed. New York: McGraw-Hill, 2001, 25
[5] Singer S N, Nicolson G L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science, 1972, 175: 720-731.
[6] Trouet A, Masquelier M, Baurain R, et al. A covalent linkage between daunorubicin and protein that is stable in serum and reversible by lysosomal hydrolyses, as required for a lysosomotropic drug-carrier conjugate. J Med Chem, 1980, 23: 1166-1170
[7] Lipinski C. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. J Pharmacol Toxicol Methods, 2000, 44: 235-249
[8] Wenlock M C, Austin R P, Barton P, et al. A comparison of physicochemical property of development and marketed oral drugs. J Med Chem, 2003, 46: 1250-1256
[9] Young R C, Mitchell R C, Brown T H, et al. Development of a new physicochemical model for brain penetration and its application to the design of centrally acting H_2 receptor histamine antagonists. J Med Chem, 1988, 31:656-671
[10] Allgayer H. Sulfasalazine and 5-ASA compounds. Gastroenterol Clin North Am, 1992, 21: 643-658
[11] Kelder J, Grootenhuis P D J, Bayada D M, et al. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. Pharm Res, 1999, 16: 1514-1519
[12] Lipinski C. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. J Pharmacol Toxicol Methods, 2000, 44: 235-249
[13] Lien E J, Wang P H. Lipophilicity, molecular weight, and drug action: Reexamination of parabolic and bilinear models. J Pharm Sci, 1980, 69: 648-650
[14] Hidalgo I J, Raub T J, Borchardt R T. Characterization of the human colon carcinoma cell line (CaCo-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. Gastroenterology, 1989, 96:736-749
[15] Artursson P, Palm K, Luthman K. Caco-2 monolayers inexperimental and theoretical predictions of drug transport. Adv Drug deliv Rev, 2001, 46: 27-43
[16] Gan L S, Thankker D R. Applications of the Caco-2 model in the design and development of biochemical and physical barriers posed by the intestinal epithelium. Adv Drug Delivery Rev, 1997, 23: 77-98
[17] Lennernas H, Nilsson D, Aquilonius S M, et al. The effect of L-leucine on the absorption of levodopa, studied by regional jejunal perfusion in man. Br J Clin Pharmacol, 1993, 35: 243-250
[18] Hansch C, Bjoerkroth J P, Leo A. Hydrophobicity and central nervous system agents: on the principle of minimal hydrophobicity in drug design. J Pharm. Sci., 1987, 76: 663-687
[19] Kutter E, Herz A, Teschemacher H J, et al. Structure-activity correlations of morphinelike analgetics based on efficiencies following intravenous and intraventricular application. J Med Chem, 1970, 13: 801-805
[20] 朱七庆, 屈凌波, 郭宗儒. 阿片类药物透过血脑屏障的三维构效研究. 药学学报, 1999, 34:

510-513

[21] Soloway A H. Boron compounds in cancer therapy// Steinberg H, McClosky A L. Progress in Boron Chemistry. Vol. **1**. New York: Pergamon Press, 1964, 203-234.

[22] Findlay J W A, Fowle A S E, Butz R F, et al. Comparative disposition of codeine and pholcodine in man after single oral doses. J Clin Pharmacol, 1986, 22: 61-71

[23] Young R C, Mitchell R C, Brown T H, et al. Development of a new physicochemical model for brain penetration and its application to the design of centrally acting H_2 receptor histamine antagonists. J Med Chem, 1988, 31: 656-671

[24] Smith D A, Jones B C, Walker D K. Desigh of drugs involving the concepts and theories of drug metabolism and pharmacokinetics. Med Res Rev, 1996, 16: 243-266

[25] Foulds G, Shepard R M, Johnson R D, et al. Pharmacokinetics of azithromycin in human serum and tissues. J Antimicrob Chemother, 1990, 25(Suppl A): 73-82

[26] Baillie T A, Halpin R A, Matuszewski B K, et al. Mechanistic studies on the reversible metabolism of rofecoxib to 5-hydroxyrofecoxib in the rat: evidence for transient ring opening of a substituted 2-furanone derivative using stable isotope-labeling techniques. Drug Metab Dispos, 2001, 29: 1614-1628

[27] Xu H Y, Xie Z Y, Zhang P, et al. Role of rat liver cytochrome P450 3A and 2D in metabolism of imrecoxib. Acta Pharmacologica Sinica, 2006 27: 372-380

[28] Kassahun K,Pearson P G,Tang W, et al. Studies on the metabolism of troglitazone to reactive intermediates *in vitro* and *in vivo*. Evidence for novel biotransformation pathways involving quinone methide formation and thiazolidinedione ring scission. Chem Res Toxicol, 2001, 14: 62-70

[29] Standiffer K M, Inturrisi C E, Pasternak C W, et al. Pharmacological characterization of morphine-6- beta-glucuronide, a very potent morphine metabolite. J Pharmacol Exp Ther, 1989, 251: 477-483

[30] Robbins P W, Lipmann F. Isolation and identification of active sulfate. J Biol Chem, 1957, 229: 837-851

[31] Govier W C. Reticuloendothelial cells as the site of sulfanilamide acetylation in the rabbit. J Parmacol Exp Ther, 1965, 150: 305-308

[32] Masri M S, Booth A N, DeEds F. *O*-methylation *in vitro* of dihydroxy- and trihydroxy-phenolic compounds by liver slices. Biochim Biophys Acta, 1962, 65: 495-500

第 3 章　药物作用的靶标和活性测定

3.1　药效药物和化疗药物

临床使用的药物，大都是按照人体系统和药理作用分类的，例如作用于中枢神经系统、心血管系统和消化系统等药物，药理学和药物化学大多以此分类。如果从药物研究的视角对药物作用作进一步归纳，可按照病理和病源特征分成两类：即药效药物(pharmacodynamics)和化学治疗药物(chemotherapeutics)。

药效药物系指作用于人体的组织、器官或系统，旨在纠正功能的失调，使达到正常状态。机体内各系统、器官和组织之间在正常状态下处于平衡状态，细胞内的激素、酶、受体、细胞因子和递质等也在动态下作稳定的调控。如果某一因素过高或过低表达，导致功能的异常或紊乱，造成平衡的失调，例如血糖升高，精神抑郁，血脂异常等疾病。药效药物是通过调节机体生物大分子的功能，或提高或降低内源性配体的体内水平，将这些失衡的异常状态调整并恢复到正常水平，达到治疗目的。这类药物的作用靶标不是外来的，而为体内所固有。所以，药效药物是调整既有的功能。药效药物治疗的宗旨是以调节为本。

化学治疗药物则是治疗由病原体如细菌、真菌、原虫和病毒等所引起的感染性疾病，目的是清除或杀灭感染的病原体，以及感染引起的后果。这类药物理论上应对宿主无伤害作用，而只作用于病原体。所以，对病原体的选择性毒性(selective toxicity)是化疗药物的主要特征：杀灭、抑制或清除病原体，而对宿主无伤害作用[1]。在这个意义上化疗药物是以杀灭为本。癌症是由于遗传或环境因素导致组织细胞的无控制的恶性增殖，既是病原体，又有宿主细胞的特征，因而抗癌药物隶属于化疗药物，不过抗癌药物的作用靶标大都是体内固有的但是异常的生物大分子。区分开药效药物和化疗药物，有助于对作用靶标的认识，理解药物的作用特点和药物分子设计的原则。

3.2　受体的一般概念

受体可认为是机体(包括病原体)内所有细胞之间的化学信息系统的传感单元，通过化学信息如递质、激素或细胞因子等对受体分子的作用，产生生理学效应。细胞的许多行为如生长、发育、分化、增殖、分泌、收缩和凋亡等都是靠受

体功能调节的。药物的作用是干预和纠正受体的行为，但不是创造新的受体功能。虽然体内有些受体如苯并二氮䓬受体的内源性配体最初是靠药物发现的，至今对此受体尚不完全清楚，但绝大多数受体的天然配体是体内固有的。作用于受体的药物可提高受体的功能(激动剂)，或降低或阻止受体的功能(拮抗剂)，有时统称为调节剂(modulator)。

受体在结构上一般有两个功能区：与配体的结合区和产生功能的效应区。不同的配体作用于不同的受体，生化机制可能是相似的；而同一个配体又能够以不同的方式作用于多种受体，生化机制则是不同的，所以，受体的作用非常复杂。配体或药物对受体的作用可表现为直接作用于靶标分子，即效应器蛋白，或者通过细胞的中介分子传送于细胞内的靶标，该介导的分子称为传感分子。受体、传感分子和靶标总称为信号转导通路(signal transduction pathway)。如果效应蛋白不是影响细胞的最终的成分，而是合成或释放了另一个信号分子(通常是水分子或离子)，称作第二信使。

受体的一个重要性质是具有催化功能，其结果是使生物化学信号产生放大效应，所以成为药物的良好靶标。受体本身也可以是酶，催化底物发生化学变化(代谢)并导致产物的增加或底物的减少；一些受体是离子通道，当与配体结合时，开启通道，使离子流入或流出细胞；甾体激素与细胞核内受体结合，可转录许多特异的 mRNA，从而拷贝出许多不同的蛋白质分子。

3.3　受体靶标的分类

人体组织细胞中的药物靶标大体可分为 4 类：受体、酶、离子通道、转运蛋白，药物靶标的化学本质主要是蛋白质，核酸是另一类靶标。

3.3.1　受体

根据受体与效应器不同的连接和传导方式，受体可分为四个家族：①配体门控直接作用的离子通道受体，是药物配体对受体发生的直接作用；②G 蛋白偶联受体；③蛋白-激酶型受体；④细胞核激素受体。后三类是通过转导机制进行的。图 3-1 为药物受体分类的示意图[2]。配体或药物与细胞膜上的受体结合，直接引起配体门控离子通道的开启或关闭，例如烟碱样乙酰胆碱受体等；另三类是通过转导机制引起胞内的级联反应。绝大多数受体镶嵌于细胞膜上，膜稳固着受体蛋白的构象，离开了细胞膜的支撑，受体的构象发生改变，这对研究膜受体的三维结构和基于受体结构的药物分子设计带来了困难。

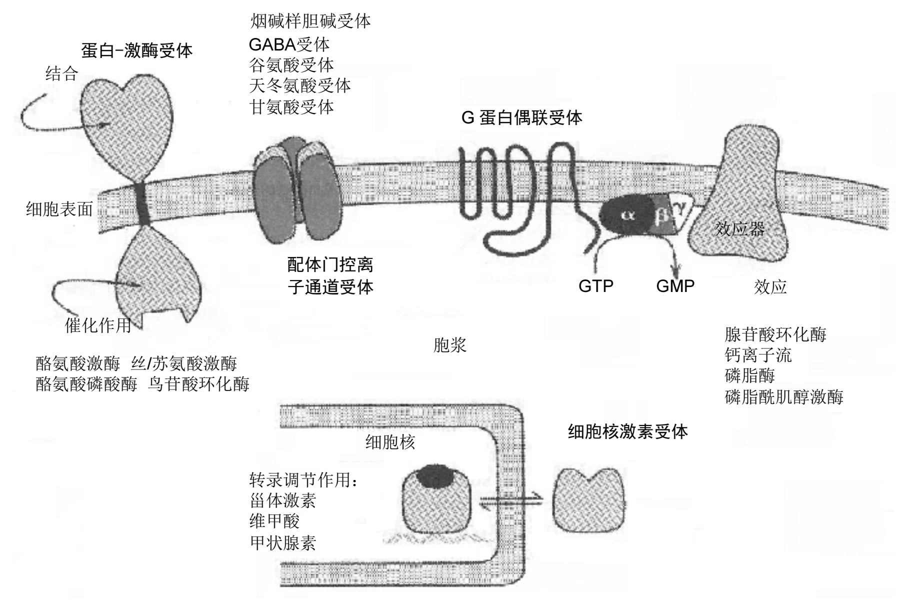


图 3-1 药物受体分类的示意图

3.3.1.1 配体门控直接作用的离子通道受体

配体门控直接作用的离子通道受体(direct ligand-gated ion channel receptor)是镶嵌于细胞膜上的受体，为跨膜蛋白，每个跨膜片段是由 20~25 个氨基酸组成的α螺旋，通常由 4~5 个这样的跨膜α螺旋形成了中间的孔道。当配体或药物与跨膜蛋白结合，可影响通道的开启与关闭，将信号转化为细胞膜电位的变化，或离子浓度的改变。许多神经递质属于这类受体的配体，例如烟碱样乙酰胆碱(nAch)受体，γ-氨基丁酸 A($GABA_A$)受体，谷氨酸受体，5-羟色胺受体和甘氨酸受体等。表 3-1 列出了这些受体的激动剂和有代表性的拮抗剂。

表 3-1 配体门控离子通道受体的激动剂和拮抗剂

受体	激动剂	拮抗剂
烟碱样乙酰胆碱受体	乙酰胆碱 烟碱	筒箭毒碱 α-银环蛇毒素(α-bungarotoxin)
$GABA_A$ 受体	吲地波隆(indiplon)	环己氯噻嗪(cyclothiazide)
谷氨酸受体	使君子氨酸(quisqualate)	沙贝鲁唑(sabeluzole)
5-羟色胺受体	pumosetrag	吲地司琼(indisetron)
甘氨酸受体	β-丙氨酸	银杏苷 B (ginkgolide B)

3.3.1.2　G 蛋白偶联受体

G 蛋白偶联受体(G-protein-couple receptor，GPCR)是一个大的受体家族，许多药物的受体是 GPCR。G 蛋白偶联受体的结构为三个亚基构成的异三聚体，与三磷酸鸟苷 GTP 相连接，故称 G 蛋白。GPCR 作为传感分子将信号传递到它的效应蛋白上。

激动 G 蛋白偶联受体的配体有内源性胺，阿片生物碱，类花生酸(eicosanoids)，脂质信号分子，肽类和蛋白配体等。激动 GPCR 的效应分子包括有酶类，例如腺苷酸环化酶、磷脂酶 C，以及胞浆膜上的选择性 Ca^{2+}和 K^{+}通道。显然，G 蛋白偶联受体履行多种生理功能，因而广泛作为药物的靶标，根据粗略估计，临床应用的药效药物半数是作用于这类受体的。

G 蛋白偶联受体是跨膜蛋白，由 7 个α螺旋围成疏水腔穴，腔穴中有与配体结合的位点。每个跨膜螺旋含有 20~25 个氨基酸残基。蛋白的 N 段在细胞膜外，常常被糖基化，C 端在胞浆中，与蛋白链的 3 个环套共同参与 G 蛋白偶联反应。

G 蛋白的 3 个亚基为α、β和γ组成，α亚基与鸟苷酸结合，具有酶活性，催化 GTP 转变为 GDP 的反应。β和γ亚基有很强的疏水性，与胞浆膜相结合。G 蛋白在膜上可以自由地移动，这种性质对于同其他受体或效应器发生相互作用是非常重要的。

图 3-2 是 G 蛋白功能的示意图。受体处于静止态(a)时，G 蛋白经α亚基与二磷酸鸟苷(GDP)呈结合状态，当配体与受体结合(b)后，受体蛋白的 C 端与 3 个环套的构象发生变化，G 蛋白的功能随之改变，使三磷酸鸟苷(GTP)与α亚基结合，同时将 GDP 解离。α亚基被 GTP 激活，并与膜上的靶标(效应器)结合(c)，导致一系列级联反应的发生。然后细胞内的 GTP 酶将 GTP 水解成 GDP 和磷酸(d)，α亚基与$\beta\gamma$结合，信号转导终止，回复到原来的静止态，完成了一次循环。

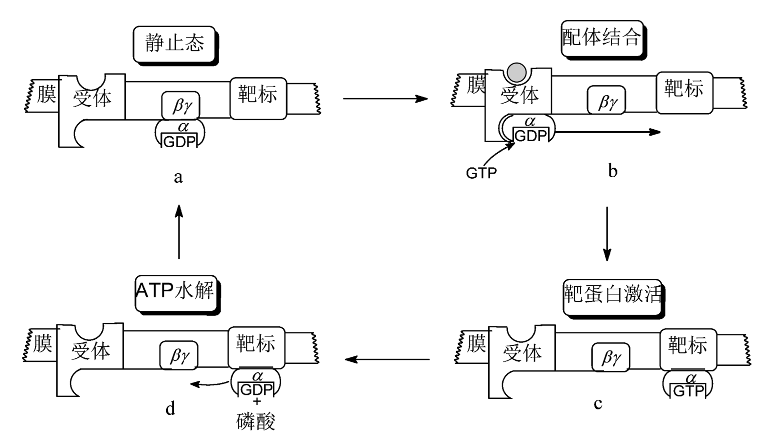


图 3-2　G 蛋白功能的示意图

图中◎代表 G 蛋白的配体

被α亚基-GTP 激活的靶标有腺苷酸环化酶(adenyl cyclase)，磷脂酶(phospholipase)，转运蛋白和离子通道等。腺苷酸环化酶可催化 ATP 转变成 cAMP 的反应，cAMP 是重要的第二信使，履行细胞内的许多功能。神经递质、激素和许多药物可提高或降低腺苷酸环化酶的催化活性，因而增加或减少了细胞内 cAMP 水平。

cAMP 对细胞功能的调节是多方面的，包括参与能量代谢的酶、细胞分裂和分化、离子转运、改变神经元的兴奋性、平滑肌蛋白的收缩等。虽然这些作用的表现形式不同，但都是通过共同的机制，即 cAMP 催化激活各种蛋白激酶(kinase)，各种激酶催化细胞中蛋白质的酪氨酸、丝氨酸或苏氨酸残基发生磷酸化(磷酸源是三磷酸腺苷 ATP)，调节细胞的功能。图 3-3 列举了经β肾上腺受体的活化，影响参与肝细胞、脂肪和肌细胞的糖原和脂肪代谢的酶系，其结果是细胞中以糖原和脂肪形式储藏的能量转化成葡萄糖等，供肌肉收缩的消耗。

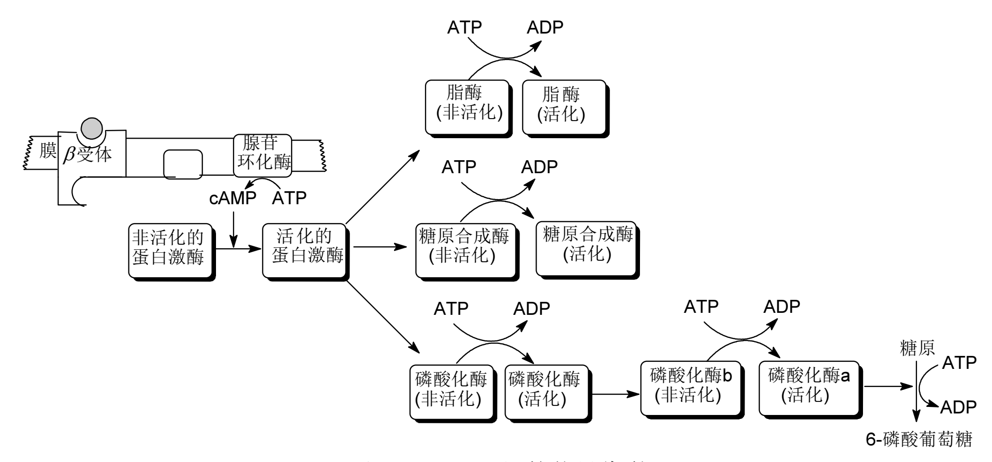


图 3-3　cAMP 调控能量代谢

cAMP 在细胞内被磷酸二酯酶水解成 5′-AMP，磷酸二酯酶是一组酶系，许多药物如茶碱和咖啡因是磷酸二酯酶的抑制剂。

G-蛋白偶联受体还可激活磷酸肌苷酶 C(phosphoinositidase C，PLC)，后者催化 4,5-二磷酸磷酰肌苷(PIP_2)水解生成 1,4,5-三磷酸肌醇酯(IP_3)和二酰基甘油(diacylglycerol，DAG)，IP_3 与膜内受体结合，导致细胞内钙增加，胞内钙的增加会引起多种效应，例如腺体分泌，平滑肌收缩，递质的释放等。

二酰基甘油是蛋白激酶 C 的调节剂，蛋白激酶 C 结合于细胞膜上，迄今已经鉴定有 10 多种，其功能是催化细胞内许多递质或因子的丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化，产生多种生理效应，例如平滑肌的收缩与舒张，神经递质的释放量，神经元兴奋性的提高或降低，肿瘤转移，炎症的发生等。蛋白激酶 C 的抑制剂可阻止

人体 T 细胞的活化，因而是治疗慢性炎症和自家免疫性疾病的靶标。

作用于 G 蛋白偶联受体的药物有很多种，包括β-肾上腺能受体、组胺 H_1 受体、H_2 受体、阿片μ受体、5-HT 受体、多巴胺受体等，可以是激动剂，部分激动剂和拮抗剂。表 3-2 列出了有代表性的受体及其药物。

表 3-2　G 蛋白偶联受体的激动剂和拮抗剂

受体	激动剂	拮抗剂
β-肾上腺能受体	去甲肾上腺素(noradrenaline)	普萘洛尔(propranolol)
组胺 H_1 受体	组胺(histamine)	美吡拉敏(mepyramine)
组胺 H_2 受体	双咪硫胍(impromidine)	西咪替丁(cimetidine)
阿片μ受体	吗啡(morphine)	纳络酮(naloxone)
5-HT_3 受体	pumosetrag	吲地司琼(indisetron)
多巴胺 D_2 受体	多巴胺(dopamine)	氯丙嗪(chlorpromazine)

3.3.1.3　酪氨酸蛋白-激酶型受体

酪氨酸蛋白-激酶型受体(tyrosine protein kinase receepror)是具有酶催化活性的最大的一类受体，又称与酶活性相关的受体。其功能是将细胞膜内的效应蛋白磷酸化，发挥调节作用。效应蛋白经磷酸化后，改变了生化活性和与其他蛋白的相互作用。被蛋白激酶磷酸化底物的位点主要是酪氨酸残基，包括有胰岛素，细胞因子(cytokine)，与生长和分化相关的蛋白等。

这类受体也是跨膜蛋白，含有 400~700 个氨基酸残基，在胞外和胞内都有较大的结构域。胞外的配体结合域的同源性较低，而胞内的序列相对比较固定和保守，特别是在膜的附近，是与 ATP 结合位点，ATP 用来对各种蛋白的酪氨酸残基进行磷酸化。底物结合位点处于胞内域的末端。这类受体被激活后，可刺激癌基因的转录和表达，产生癌基因蛋白，因此酪氨酸激酶是抗癌药物的重要靶标。表 3-3 列出一些有代表性的受体激酶抑制剂。

表 3-3　有代表性的受体激酶抑制剂

受体	抑制剂
表皮细胞生长因子受体(EGFR)	埃罗替尼(erlotinib)
血小板来源的生长因子受体(PDGFR)	来氟米特(leflunomide)
血管表皮生长因子受体(VEGFR)	瓦他拉尼(vatalanib)
Bcr-Ab1 激酶	伊马替尼(imatinib)

3.3.1.4　细胞核激素受体

细胞核激素受体(nuclear hormone receptor)是调控 DNA 转录的受体，与上述的受体有很大的不同。这类受体包括甾体激素(雌激素、孕激素、雄激素、皮质激素)、甲状腺素、维生素 D_3 和维生素 A 等受体，是存在于胞浆可溶性的 DNA 结合蛋白，用来调节特异基因的转录过程。这类受体是以二聚体形式起作用，有的是同二聚体，有的为异二聚体。配体与其特异性蛋白结合，进入细胞核内，与 DNA 特异的序列相结合，从而激活了某些基因的转录和蛋白的表达，调节细胞的生长、分化、增殖和其他功能。表 3-4 列出了核受体及其调节剂。

表 3-4　核受体及其调节剂

受体	调节剂
雌激素受体	他莫昔芬(tamoxifen)
雄激素受体	比卡鲁胺（bicalutamide)
孕激素受体	达那唑(danazol)
过氧化酶体增殖激活受体	罗格列酮(rosiglitazone)
维生素甲酸受体	全反式维甲酸(retinoic acid)
甲状腺素受体	阿昔替罗(axitirome)

3.3.2　酶

临床应用的许多药物是通过特异性地抑制(少数是激活)酶活性而起作用的，根据统计，大约有 1/3 的临床应用药物是酶抑制剂。由于酶在胞浆中以游离的形式存在，因而研究酶的结构及其功能的比受体容易。药物靶酶可以是人体内固有的酶，或是侵入到体内病原体的酶系，无论是哪种酶，应用抑制剂的目的是通过抑制酶的活性，维持或提高底物量(浓度)，或者降低代谢产物量(浓度)，产生临床治疗效果。

酶抑制剂通常结合于酶的催化活性中心，阻止其催化功能。一些结构相似的酶，催化相同的反应，但反应底物和产物不同，这些酶称作同工酶(isozyme)，上一章讨论过的细胞色素 P450 是同工酶，参与药物的代谢转化。同工酶的存在，对于设计酶的抑制剂需要解决特异性问题，因为结构类似的酶有不同的功能，若抑制剂的特异性不高，会抑制非靶标(off-target)的酶活性，产生副作用。

酶抑制剂可分为可逆性抑制剂和不可逆抑制剂，属于药效药物的酶抑制剂一般为可逆性抑制剂，此时酶与抑制剂的结合通过非共价键作用，如静电引力、氢键、疏水作用以及范德华作用等弱作用力，发生可逆性结合，暂时降低了酶的活

性，但并未将酶彻底失活。当然，有些抑制剂与酶发生高亲和性的非共价键结合，产生的后果相当于不可逆抑制作用，例如抗肿瘤药物甲氨蝶呤与二氢叶酸还原酶的结合作用很强，类似于不可逆性结合。不可逆抑制剂往与酶发生共价键结合，酶分子不能恢复成原来状态，导致酶活性被完全抑制。化疗药物靶标是病原体的酶，许多是不可逆抑制剂。图 3-4 是酶抑制剂作用的示意图：(a)为可逆性抑制剂的作用过程；(b)为不可逆性抑制剂的作用过程。

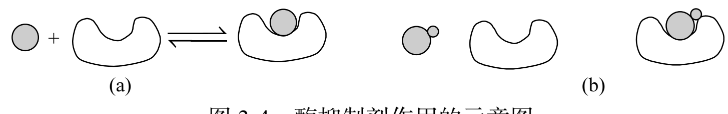


图 3-4　酶抑制剂作用的示意图

○为可逆性抑制剂；○°为不可逆抑制剂

有些药物本身没有药理活性，经酶的作用生成有活性的药物成分而起作用，这就是前药(prodrug)。图 3-5 是酶作用于前药和被活化的示意图。

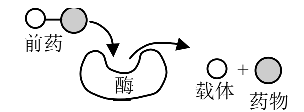


图 3-5　前药被酶活化的示意图

表 3-5 列出了有代表性的酶抑制剂，包括对人体酶、细菌和病毒酶的抑制剂。

表 3-5　有代表性的酶、抑制剂及其适应证

酶	抑制剂	适应证
HMG 辅酶 A 还原酶	阿托伐他汀(atorvastatin)	降胆固醇
血管紧张素转化酶	伊那普利(enalapril)	降低血压
H^+/K^+ ATP 酶	奥美拉唑(omeprazole)	降低胃液分泌，胃溃疡
环氧合酶-2	塞来昔布(celecoxib)	抗炎，镇痛
胸苷酸合成酶	培美曲塞(pemetrexed)	抗癌
二氢叶酸还原酶	氨甲蝶呤(methotrexate)	抗癌
HIV 逆转录酶	齐多夫定(zidovudine)	抗艾滋病
HIV 蛋白酶	替拉那韦(tipranavir)	抗艾滋病

3.3.3　离子通道

离子通道(ion channel)是镶嵌于细胞膜上的另一蛋白家族，这种跨膜蛋白形成的离子通道由三个不同的基本元件构成：通透离子的孔道，蛋白分子中接受刺激

的感应部分，控制通道开启或关闭的闸门。作为药物靶标的离子通道可分为两类：电压门控通道(voltage-gated channel)和配体门控通道(ligand-gated channel)，它们的共同点是对配体的刺激有敏感性，产生离子的内流或外排，区别在于电压门控通道的刺激引起膜电位变化，配体门控通道是化学电位的变化。

配体结合离子通道蛋白引起整体构象的变化，发生三种不同的状态：关闭(即静止)、开启和非激活状态。通道的这些不同状态，对于配体或药物有不同的亲和力，导致不同的药理作用。图 3-6 是直接作用于通道的阻断剂(a)和引起通道开启或关闭的调节剂(b)示意图。

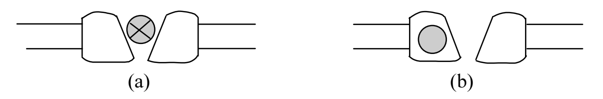


图 3-6 (a)直接作用于通道的阻断剂；(b)引起通道开启或关闭的调节剂

离子通道作为药物靶标包括钠通道、钙通道、钾通道和氯通道等。由于每种通道存在不同的构象状态，药物的化学结构对通道的影响是多种多样的，因而表现的构效关系比较复杂。表 3-6 列出了离子通道靶标的一些阻断剂和调节剂。

表 3-6 离子通道靶标的一些阻断剂和调节剂

离子通道	阻断剂	调节剂
电压门控的钠通道	局部麻醉和镇痛药 河豚毒素(tetrodotoxin)	藜芦定(veratridine)
肾小管钠通道	利尿降压药阿米洛利(amiloride)	醛固酮(aldosterone)
电压门控的钙通道	降压药二氢吡啶类	艾地苯醌(idebenone)
电压门控的钾通道	局麻药左布比卡因(levobupivacaine)	克罗卡林(cromakalim)
ATP-敏感的钾通道	降血糖药磺酰脲类	ATP
DABA 门控的氯通道	印防己毒素(picrotoxin)	苯并二氮䓬类
谷氨酸门控阳离子通道	抗癫痫药地佐环平(dizocilpine)	甘氨酸

3.3.4 转运蛋白

转运蛋白位于细胞膜上，其功能是帮助离子或极性极性分子穿越细胞膜。由于细胞膜的脂质性，离子或极性分子难以进入细胞，例如葡萄糖和氨基酸等营养物质以及内源性神经递质等是靠转运蛋白输送到细胞内的。第 2 章讨论药物吸收和过膜过程的主动转运和易化扩散，就是特异性转运蛋白的功能。转运蛋白分子中有特异的识别和结合位点，要求被转运的极性化合物有特异的结构和构象，与蛋白的特定位置结合后，定向地转运过膜而摄入，或将细胞内的物质转运向胞外泵出。图 3-7(a)

是转运蛋白的正常运载过程，图 3-7(b)是抑制剂⊗与载体结合后阻止了对正常底物的转运。对转运蛋白的抑制可以促进或降低底物或配体在细胞内的水平。

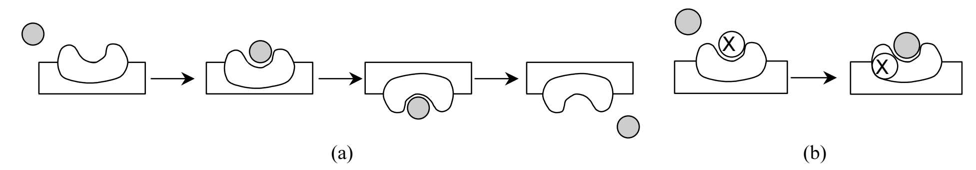


图 3-7　(a) 运载蛋白对底物○的正常转运过程；(b) 抑制剂⊗对转运过程的阻断

转运蛋白既可将底物向胞内摄入，也可从细胞中泵出，这取决于转运蛋白的性质与分布，例如肾曲小管转运许多离子和有机小分子，细胞外排钠和钙离子，末梢神经细胞摄入神经递质的前体如胆碱或神经递质如去甲肾上腺素、5-羟色胺和谷氨酸等，都是借助于特异的转运蛋白的作用。

P-糖蛋白也是一类转运蛋白，是由多药耐药-1 基因(*MDR*-1)编码表达的蛋白，许多化疗药物的耐药性是由于 P-糖蛋白高表达所致，降低了化疗效果。P-糖蛋白还表达于脑毛细血管上皮细胞，是为了将有害物质从脑脊髓中泵出，保护中枢神经系统。在肠上皮细胞的 P-糖蛋白，其外排作用是阻止药物在消化道的吸收，表现为首过效应。所以针对这些转运蛋白的生理功能，可作为药物作用的靶标。表 3-7 列举了一些转运蛋白的抑制剂。

表 3-7　一些转运蛋白的抑制剂

转运蛋白	抑制剂
去甲肾上腺素摄取蛋白	三环类抗抑郁药；可卡因(cocaine)
5-羟色胺重摄取蛋白	度洛西汀(duloxetine)
神经末梢胆碱转运蛋白	密胆碱(hemicholinium)
P-糖蛋白(MDR-1)	维拉帕米(verapamil), zosuquidar

3.4　药物-受体相互作用的测定

3.4.1　基本方程的推导

药物与受体相互作用，第一步是生成可逆性的药物-受体复合物，该过程遵循质量作用定律。为便于考察该过程的量变关系，假定某平滑肌组织上有肾上腺能受体的总量为 $N_{总}$ 个，置于浓度为 C_A 的激动剂肾上腺素溶液中，当反应达到平衡时，N_A 个受体被结合，剩余的游离态受体为 $N_{总}-N_A$，在通常情况下由于肾上腺素分子数量远远超过 $N_{总}$，所以结合后的肾上腺素浓度 C_A 没有明显变化。由于肾

上腺素产生效应的强度与肾上腺能受体被结合的数量成比例，所以可以考察 N_A 和 C_A 之间量的关系。该反应可用下面方程表示，方括号为相应的浓度：

$$\underset{\substack{\text{药物}\\ C_A}}{A} + \underset{\substack{\text{游离受体}\\ N_{总}-N_A}}{R} \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} \underset{\substack{\text{复合物}\\ N_A}}{AR}$$

$$\text{正反应速率} = k_{+1} \cdot C_A \cdot (N_{总} - N_A) \tag{3-1}$$

$$\text{逆反应速率} = k_{-1} \cdot N_A \tag{3-2}$$

当反应处于平衡状态时，正反应与逆反应的速率相等：

$$k_{+1} \cdot C_A \cdot (N_{总} - N_A) = k_{-1} \cdot N_A \tag{3-3}$$

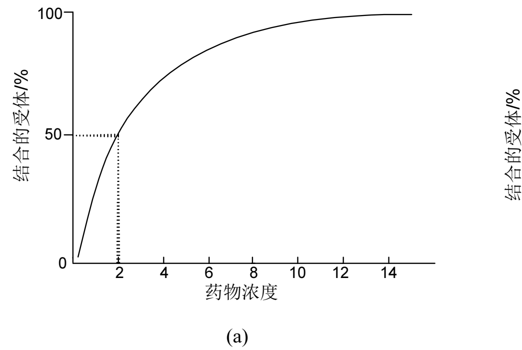
受体被结合的比例为 $P_A=N_A/N_{总}$，它与 $N_{总}$无关：

$$P_A = C_A/(C_A + k_{-1}/k_{+1}) \tag{3-4}$$

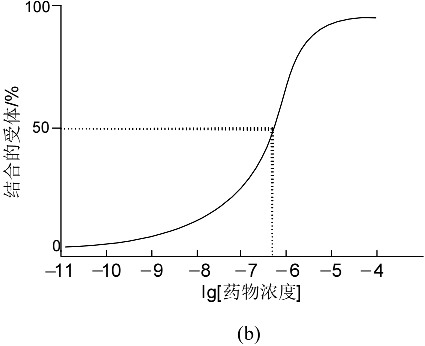
该结合反应的平衡常数或称离解常数 $K_D= k_{-1}/k_{+1}$，方程(3-4)可写为：

$$P_A = C_A/(C_A+K_D)\text{，或 } P_A = (C_A/K_D)/(C_A/K_D + 1) \tag{3-5}$$

式(3-5)称作 Langmuir 方程，式中离解常数 K_D 是该药物和受体的特征性参数，离解常数的单位用浓度表示。当 P_A=50%时，$K_D = C_A$，即达到平衡状态时离解常数等于半数受体被结合的药物浓度。药物对受体的亲和力越高，K_D 值越小。方程(3-5)表示出被结合的受体与药物浓度之间的关系，若以药物浓度与被结合受体量作图，得到等轴双曲线，如图 3-8(a)所示；若以药物浓度的对数与被结合受体量作图，得到半对数的浓度-结合率曲线，呈 S 形状，如图 3-8(b)所示。



(a)



(b)

图 3-8　(a) 药物浓度与受体被结合量的作图；(b)药物浓度的对数与受体被结合量的作图

3.4.2　激动剂的浓度-效应曲线

生物效应可用实验方法定量地测定，例如在微观的分子水平上测定与受体的结合常数(复合物的离解常数)或酶的活性，在细胞水平上测定对细胞生长、增殖或功能的变化，在宏观的组织或器官水平上测定组织器官的功能变化，如平滑肌收缩或松弛的幅度，在整体动物的水平上测定动物的生理效应变化，如血压或血糖值的升降，行为的变化等。无论是分子水平或是细胞或整体水平的活性测定，都是以药物与生物靶标的作用为基础的。

假定生物效应与受体被药物的结合量成正比，则可以在不同的浓度或剂量下测定效应的变化，得到浓度-效应曲线，或药量-效应曲线。如果被结合的受体完全转化为效应，可以达到最大的激动效应，这就是完全激动剂(full agonist)。当一系列完全激动剂的量-效曲线形状相同，曲线相互平行，提示是与相同受体的同一位点结合，表明这些激动剂的作用机制是相同的，它们之间药效强度的不同在于对受体的亲和力(结合强度)不同，随着亲和力减弱，药效降低，曲线向右移。图 3-9 是系列完全激动剂的浓度-效应曲线，a~d 均为激动剂，对受体的亲和力 a>b>c>d。

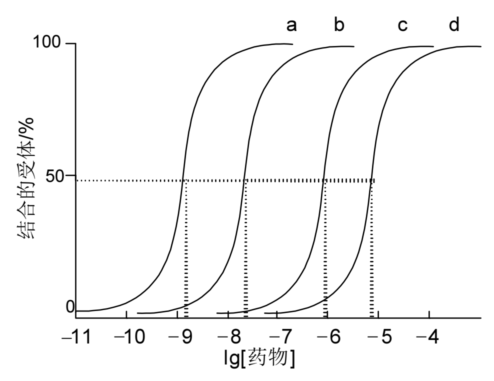


图 3-9　系列完全激动剂的浓度-效应曲线

3.4.3　竞争性拮抗剂

如果药物与受体结合并形成复合物，但不能产生生物效应，这就是受体拮抗剂。当有两个或多个拮抗剂同时存在于一个受体环境中，由于受体只能与一种药物结合，就会发生竞争性结合问题。下面考察这种竞争性结合。假定两种拮抗剂 A 和 B，浓度分别为 C_A 和 C_B，

$$A + R \underset{k_{-1A}}{\overset{k_{+1A}}{\rightleftharpoons}} AR$$

$$C_A \quad N_{总}-N_A-N_A \quad N_A$$

$$B + R \underset{k_{-1B}}{\overset{k_{+1B}}{\rightleftharpoons}} BR$$

$$C_B \quad N_{总}-N_A-N_A \quad N_B$$

当达到平衡时，正反应与逆反应的速率是相等的：

对于药物 A：
$$k_{+1A} \cdot C_A \cdot (N_{总}-N_A-N_B) = k_{-1A} \cdot N_A \qquad (3\text{-}6)$$

对于药物 B：
$$k_{+1B} \cdot C_B \cdot (N_{总}-N_A-N_B) = k_{-1B} \cdot N_B \qquad (3\text{-}7)$$

由于药物 B 的加入，降低了药物 A 与受体结合的概率，即得：

$$P_A = (C_A/K_{DA})/[(C_A/K_{DA})+(C_B/K_{DB})+1] \qquad (3\text{-}8)$$

式中，P_A 是药物 A 与受体的结合百分率。此时加入 B 后若仍要使 A 与受体的结合率达到没有 B 的情况时，就必须增加 A 的浓度成 C_A'，增加的比例 $r = C_A'/C_A$ 为：

$$r = (C_B/ K_{DB}) + 1 \qquad (3\text{-}9)$$

这个方程在实验中很有用，可用于测定生物效应，也可直接测定激动剂结合常数。显然，r 值只取决于该拮抗剂的浓度及其离解常数，而不受其他激动剂离解常数的影响。在拮抗剂的存在下，以激动剂浓度的对数与效应作图，可以呈现出竞争性拮抗剂的影响，此时受竞争性拮抗剂的影响，曲线向右移动，但不影响曲线的斜率和最大效应。例如，图 3-10(a)是异丙肾上腺素的浓度-效应(最大激动作用的百分率)曲线与加入的竞争性拮抗剂普萘洛尔浓度之间的关系，随着普萘洛尔浓度的提高，异丙肾上腺素的曲线右移，但曲线的形状、斜率和最大激动作用未发生变化。此外，r 值随拮抗剂 B 的浓度增高而呈线性增加，将$(r-1)$与拮抗剂普萘洛尔浓度 C_B 作图，直线的斜率为 $1/K_{DB}$，从而可以求出普萘洛尔的离解常数[图 3-10(b)]。

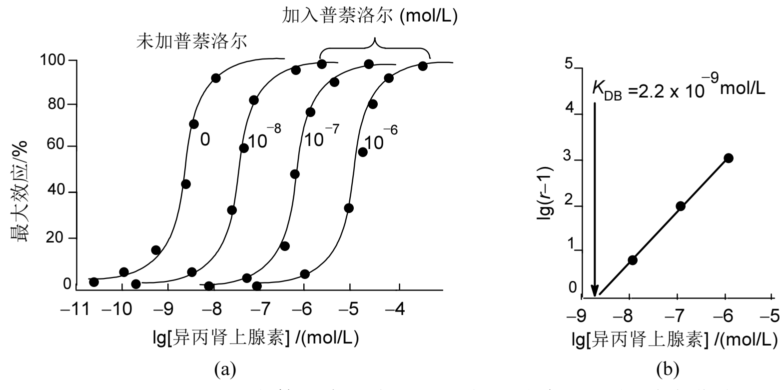


图 3-10　豚鼠离体心房测定的异丙肾上腺素的浓度-效应曲线以及普萘洛尔的竞争性抑制作用

(a)不同浓度的普萘洛尔的浓度-效应曲线；(b)普萘洛尔的离解常数 K_{DB} 为直线在横轴的截距

3.4.4　部分激动剂和效能概念

上面讨论的完全激动剂和拮抗剂是两种与受体作用的极端情况。完全激动剂产生的最大效应会使相应的效应器产生完全和最大的效应。拮抗剂与受体结合不仅不能产生效应，而且竞争性地阻止激动剂与受体的结合。然而，许多化合物与受体的结合实际上并非产生这种“全”或“无”的作用，尤其是一系列结构类似的化合物，与同一受体作用时，会呈现“中间”状态，即部分激动剂(partial agonist)。部分激动剂是能与受体结合(有亲和力)，但不能产生相应的效应，即使增大浓度，也不能产生 100% 效应，这就引申出药物对组织或效应器产生的“效力”(efficacy)概念。根据组织中含有的受体量和受体与效应之间的内在关系特征，以及药物-受体形成复合物的性质，人们提出了内在效力(intrinsic efficacy)的概念[3]。药物与受体的结合同产生效应的关系可用下式表征

$$效应=f[(\varepsilon N_{总} C_A)/(C_A + K_{DA})] \tag{3-10}$$

式中，f 代表转换函数，是表征受体结合与产生效应之间的特征值；$N_{总}$为组织中含有的受体总量；f 和 $N_{总}$代表了组织的特征；ε 表示内在效力，为药物-受体复合物的特征。该式解释了为什么同一个激动剂作用于不同的组织的相同受体，产生不同的效果，是由于不同组织的转换函数 f 和受体密度不同，表现出药物对某一组织是完全激动剂，而对另一组织为部分激动剂。同样，两种激动剂即使作用于同一种受体，但不同的组织产生的药效强度会不同。化合物与受体的结合实验，只说明了药物对受体的亲和力，但不能预期作用的功能或效力。图 3-11 进一步说明了药物的效应或功能与同受体的结合力之间的关系。

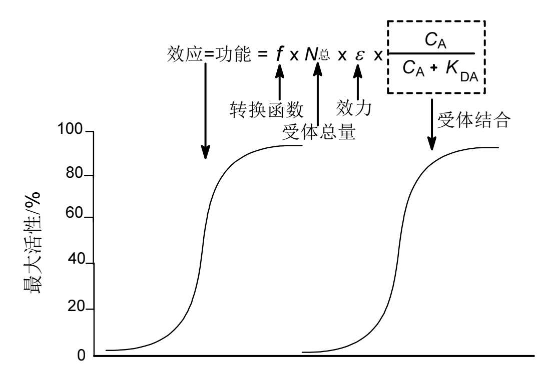


图 3-11　药物的效应与同受体的结合力之间关系

3.5　受体结合试验

受体结合试验是一种快速而灵敏地评价化合物对受体亲和力的方法，由于是在分子水平上操作，使用的生物材料和化合物样品量少，并可以实现自动化和规模化评价，同时也因靶标明确，为药物化学和药理家提供初步活性和作用机制的信息。虽然受体结合试验不能确定化合物的功能和药物效力，但常常与生物靶标的效应试验相结合，成为现行的活性评价方法。

最常用的受体结合试验是用放射性标记的配体研究与受体的相互作用。一般的原理是将放射性标记的神经递质、激素或有活性的化合物(激动剂或拮抗剂)加到含有受体的细胞膜材料(颗粒性或可溶性物)中，温孵并达到稳态后，具有高亲和力的放射性配体特异性地与受体发生可逆性结合，发生的结合作用遵循质量作用定律，呈如下平衡反应：

$$L^*+R \rightleftharpoons L^*R$$

式中，L^*代表放射性配体，R 为受体，L^*R 为与受体的复合物。在稳态下，用适宜的方法将游离的L^*与复合物L^*R分开，然后向复合物中加入非标记的受试物 L，若 L 能够与L^*竞争结合受体的位点，则置换掉L^*，根据加入不同浓度的 L 和游离出不同浓度的L^*量，可计算出受试物的结合常数。

常用的标记放射性同位素有 ^3H、^{14}C 和 ^{125}I。温孵实验中的细胞膜浓度(代表受体浓度)，pH，离子强度和温度需经优化实验来确定，以保障受体量和反应过程的恒定与重现。为了测定离解常数 K_d 和最大的结合量 B_{max} (为受体的总量 R_T 的量度)，分别将不同浓度的放射性配体与固定浓度的细胞膜液温孵，即进行饱和性实验。

如果该特异性结合遵循式(3-5)的 Langmuir 方程，则结合的受试物量(B)与受试物浓度(C)之间的关系为：

$$B = B_{max} \cdot C/(C + K_d) \quad (3\text{-}11)$$

式中 B_{max} 为细胞膜(或细胞)中受体总量或称结合位点的总量，通常用每毫克细胞或蛋白的纳摩尔量(nmol/mg)表示，K_d 为离解常数。

上述的饱和实验用 Scatchard 作图法求出 K_d 和 B_{max}，得到直线 a，直线斜率的负倒数为 K_d，K_d 越小，配体的亲和力越高，通常在 nmol/L 水平。直线 a 在横轴的截距为[RT]，可用每 mg 细胞或蛋白的 pmol 表示。式(3-11)为非线性方程，为了从实验测定的数据估算出 B_{max} 和 K_d 值，式(3-11)可表示为：

$$B/C = (B_{max}/K_d) - (B/K_d) \quad (3\text{-}12)$$

在饱和实验中加入非标记的受试物以进行置换实验，Scatchard 作图得到的直线可能有两种情况：一种是直线 b，斜率降低，但截距[RT]不变，表明置换物与配体竞争性地结合受体；另一种是直线 c，斜率未变但截距降低，表明为非竞争性结合。图 3-12 为配体与受体相互作用数据分析图。

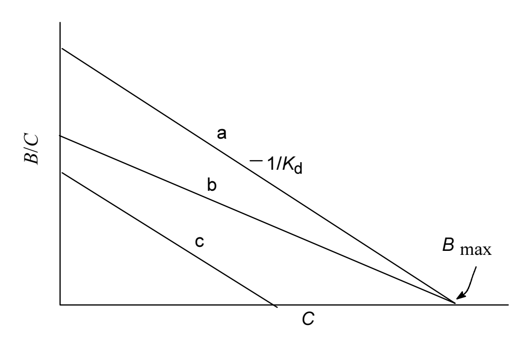


图 3-12 无置换物的对照实验(a)和有不同置换物(b，c)的存在下配体-受体结合实验的 Scatchard 作图

由置换实验得到的数据绘制成置换曲线或称抑制曲线，即将放射性配体与受体结合的百分率与相应的置换物浓度的对数作图，得到 S 形曲线，曲线拐点对应的横轴为药物的半数抑制浓度 IC_{50}，在此浓度下 50%放射性配体被药物置换。IC_{50} 是药物与受体的亲和力常数，也就是抑制常数 K_i。如果药物竞争性地结合于受体，IC_{50} 与 K_i 的关系可用 Cheng-Prusoff 方程表征[4]：

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[L]}{K_d}} \tag{3-13}$$

式中，[L]为实验中放射性配体的浓度，K_d 为 Scatchard 作图得到的离解常数。若药物为非竞争性抑制剂，则 K_i 值等于 IC_{50}。图 3-13 为药物的抑制曲线。

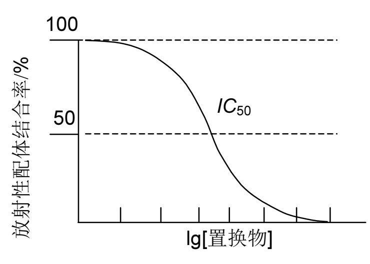


图 3-13　药物的抑制曲线

参 考 文 献

[1] Albert A. Selective toxicity: the physico-chemical basis of therapy. 7th ed. New York: Chapman & Hall, 1985

[2] Ross E M, Kenakin T P. Pharmacodynamic: mechanisms of drug action and the relationships between drug concentration and effect// Hardman J G, Limbird L E, Gilman A G. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001, 34

[3] Kenakin T. Challenges for receptor theory as a tool for drug and drug receptor classification. Trends in Pharmacol Sci, 1989, 10: 18-22

[4] Cheng Y, Prusoff W H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of an inhibitor which causes 50 percent inhibition (IC_{50}) of an enzymatic reaction. Biochem Pharmacol, 1973, 22: 3099-3108

第 4 章　药物作用的理化基础

4.1　药物作用的分类

药物进入体内，同机体发生相互作用，一方面是机体对药物在时间和空间进行物理或化学的处置，表现在对药物的吸收、分布、代谢和排泄，属于药代动力学研究的范畴，已在第 2 章作了讨论。另一方面是药物对机体的作用和因之产生的药理效应和毒副作用，即希望发生的药效和不希望发生的不良反应。本章拟从分子本质和物理化学视角考察这些作用。

根据药理作用依赖于分子的特异性结构或是分子的宏观性质，可将药物分成两大类：结构非特异性药物和结构特异性药物。区分二者的主要依据是，药理效应取决于分子中是否存在特异的化学基团或结构片段，如果不存在，为结构非特异性药物；若有，则为结构特异性药物。

4.1.1　Ferguson 原理

Ferguson 考察了某些同系物的物理性质，如化合物的水溶解度、蒸气压、表面活性，以及在不相混溶的两相溶剂之间的分配性质等的变化与药理活性的关系[1]，认为药物在起作用时要分布在生物相和外环境相中，引起某特定活性的药物浓度主要由药物在这两相间的分布状态所决定。生物相是药物活性的呈现部位，但生物相中药物的浓度无法测定，人们能够测定的只是外环境相中的浓度。若药物在生物相和外环境相(即细胞外液)之间达到平衡时，虽然两相中的药物浓度不同，但从两相之间的移离的趋势是相同的。这种趋势称作热力学活性(thermodynamic activity)，它大致等于各相中药物的饱和度。因而外相中的热力学活性与生物内相的热力学活性之间具有相关性。测定外环境相如血浆中药物的热力学活性，提供了内相如细胞中药物的热力学活性的数值，因为可以测定的只是外相，很难测定生物内相中的药物浓度。

药物的热力学活性可有不同的表示方法，气体和挥发性的液体的热力学活性用 p_t/p_s 表示，p_t 为药物产生生物活性时溶液的分压；p_s 为该物质在实验温度下的饱和蒸气压。非挥发性药物的热力学活性用 S_t/S_o 表示，S_t 为产生生物活性时药物的摩尔浓度；S_o 为实验温度下的摩尔溶解度。

p_s 和 S_o 是常数，若测定了产生特定活性时的 p_t 和 S_t 值，就可以求出药物产生

指定生物活性时的热力学活性。应用这种简便的方法确定的热力学活性值，根据数值大小可以推断药物属于结构非特异性还是结构特异性的。

4.1.2　结构非特异性药物

结构非特异性药物的作用主要取决于分子的物理化学性质，而对化学结构或化学性质的要求并无特异性。这类药物只要在体内具备某种相同的物理化学性质，就能产生相同的生物活性，而与化学结构的差异或微细变化关系较小。结构非特异性药物的热力学活性值(p_t/p_s 或 S_t/S_o)一般比较大，通常为 0.01~1，即有较高的分压或较高的浓度，通常分布在整个机体中，而且没有牢固地结合在细胞上。例如，某些气体和挥发性物质对小鼠产生相同麻醉的程度时，热力学活性变化较小。如表 4-1 所示。

表 4-1　麻醉药物的热力学活性

化合物	P(分配系数)	p_s	N	p_t	p_t/p_s
N_2O	1.4	59300	100	760	0.01
$HC\equiv CH$	1.8	51700	65	494	0.01
H_3COCH_3	11.6	6100	12	91	0.01
CH_3Cl	14.0	5900	14	106	0.02
环氧乙烷	31.0	1900	5.8	44	0.02
C_2H_5Cl	40.5	1780	5.0	39	0.02
$H_5C_2OC_2H_5$	50.0	830	3.4	26	0.03
$(H_3COCH_2)_2$	75.0	630	2.8	21	0.03
C_2H_5Br	95.0	725	1.9	14	0.02
$H_3CCH(OCH_3)_2$	100.0	288	1.9	14	0.05
$H_2C(OCH_3)_2$	120	110	1.0	8	0.07
$ClCH=CHCl$	130	450	0.95	7	0.02
CS_2	160	560	1.1	8	0.02
$CHCl_3$	265	324	0.5	4	0.01

表 4-1 中 P 为化合物的分配系数(系统为橄榄油-蒸气)；p_s 为 37℃时化合物的饱和蒸气压(mmHg，1mmHg=133.322Pa)*；N 为麻醉浓度(体积%)；p_t 为麻醉浓度下的分压(mmHg)，p_t=(760×C/100)；p_t/p_s 为热力学活性。从表 4-1 中可看出，麻醉

物质的种类和化学结构差别很大，而且引起小鼠麻醉作用的浓度或气体分压相差亦甚远，但与各个物质于 37℃的饱和蒸气压的比值却近似于常数，在 0.01~0.07，这是非特异性药物的热力学活性范围。

结构非特异性药物的生物活性与化学结构不直接关联。除非结构的变化影响了物理化学物质，这些性质包括有吸附性、溶解性、pK_a、氧化-还原电位等。它们往往影响膜的通透性和去极化作用、蛋白质的凝聚和复合物生成。

临床应用的非特异性药物有全身吸入麻醉药，酚类和长链季铵盐类杀菌药以及巴比妥类催眠药等。

4.1.3　结构特异性药物

大多数药物属于结构特异性药物，这类药物产生的药理作用主要由化学结构的特异性所决定，是与机体的特定的生物大分子发生相互作用的结果。所以，结构特异性药物的分子尺寸、形状、构型、构象、功能基配置、极性、电荷分布以及化学反应性能等决定了与受体结合的方式和程度，药理作用的特点和强度。

在这类药物中，微小的结构变化可能导致生物活性的强烈改变。例如，尿嘧啶(1)为正常的代谢物，是体内生物合成 RNA 的重要碱基，它的 5 位氢被氟原子取代，为氟尿嘧啶(5-fluorouracil，5-FU，2)，是抗代谢物，为常用的抗肿瘤药物。

肾上腺素(adrenaline，3)与异丙肾上腺素(isoproterenol，4)的烷基变化，导致前者为升血压药物，后者是支气管扩张药。

1　　2　　3　　4

结构特异性药物的热力学活性一般低于 0.01，用药剂量低于结构非特异性药物，这是由于同机体的受体发生相互作用，再经过不同的途径如信号转导、生物化学的级联反应或第二信号系统的放大而转化成药理效应。

4.2　药物-受体相互作用的理论

药物作用的受体是个广泛的生物学概念，为了揭示对不同受体靶标的作用方式和作用机制，可用不同的实验方法，而且也对药物与受体相互作用的本质，提出了不少学说。

4.2.1　占据学说

药物-受体相互作用的占据学说(occupy theory)是 Clark[2]和 Gaddum[3]提出的，他们根据酶与底物作用遵循的质量作用定律，用于解释药物与受体的作用。内容是药物的作用强度与受体被药物分子占据的数目成正比，受体分子被占据越多，药理作用的强度越大。用下式表示：

$$D + R \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} DR \longrightarrow E$$

式中，D 是药物；R 是未被占据的游离受体；DR 为被药物占据(即结合)的受体；E 为生物效应；k_1 和 k_2 分别代表药物与受体的结合和离解作用。受体被占据的数目取决于受体部位药物的浓度和单位面积(或体积)的受体数目。当全部受体被占据，出现最大效应。

占据学说的缺陷在于，它不能解释某些重要现象，例如，拮抗剂和激动剂占据的是同一受体，却产生完全相反的生物效应；有些激动剂不能产生最大效应，例如乙酰胆碱的类似物即使应用大剂量也不能产生最大效应。

4.2.2　亲和力和内在活性学说

Ariëns 于 1954 年对占据学说作了重要补充和修正，提出亲和力和内在活性学说(affinity-intrinsic activity theory)[4]。Ariëns 认为，药物与受体的相互作用是由两步组成：①药物与受体因亲和力而结合并生成复合物；②构成复合物的药物经内在活性引发出生物效应。用式(4-1)表示为：

$$D + R \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} DR \xrightarrow{k_3} E \tag{4-1}$$

药物 D 与受体 R 相互作用生成复合物 DR，当达到平衡时，

$$k_1 [D][R] = k_2 [DR] \tag{4-2}$$

[D]、[R]和[DR]分别代表药物、受体和复合物的浓度，式(4-2)可写为：

$$k_2 / k_1 = [D] [R]/[DR] = K_d \tag{4-3}$$

K_d 为复合物的离解常数。若$[R]_T$代表受体的总浓度，则

$$[R]_T = [R] + [DR] \tag{4-4}$$

由式(4-3)和式(4-4)得

$$[DR]/[R]_T = [D]/(K_d + [D]) \tag{4-5}$$

当全部受体都形成复合物时，会出现最大效应 E_{max}，

$$E_{max} = \alpha[R]_T \tag{4-6}$$

式中α为转化因子，是受体的特异性参数。

由于

$$[DR]/[R]_T = E/E_{max} \tag{4-7}$$

故

$$E = E_{max}[D]/(K_d + [D]) \tag{4-8}$$

方程(4-8)表明，效应 E 与游离药物浓度[D]之间呈双曲线关系。当效应 E 是最大效应的一半时，则

$$E_{max}/2 = E_{max}[D]/(K_d + [D]),\ K_D = [D] \tag{4-9}$$

即药物呈现 50%最大效应时的浓度等于复合物的离解常数，所以 K_D 是个特征参数。

式(4-1)中表征内在活性的参数是 k_3，即：

$$E = k_3[DR] \tag{4-10}$$

k_3=l 时，表示所有的复合物都转化成效应，为完全激动剂(full agonist)；k_3<1 时，表示复合物不能完全转化成效应，为部分激动剂(partial agonist)；k_3=0 时，表示药物即使形成了复合物也不能产生效应，为竞争性拮抗剂(competitive antagonist)。

根据 Ariëns 的学说，激动剂和拮抗剂都与受体有亲和力，因而都能形成药物-受体复合物，但只有激动剂($k_3 \leqslant 1$)有内在活性，能产生效应，而拮抗剂(k_3=0)不能引发生物效应。

激动剂通常是含有极性基团的配体分子，例如肾上腺素含有氨基、β-羟基和酚基，如果在肾上腺素的苯环或侧链上引入非极性的大基团，就有可能变成拮抗剂，此时它也同受体结合，但这些基团与受体的辅助部位发生新的结合，抑制了激活受体的作用。

Ariëns 对占据学说的补充解释了激动剂和拮抗剂的区别，但仍不能完全解释药物作用类型的改变，即激动剂或拮抗剂与相同受体结合，但产生相反结果的理由，因而需要从分子水平上以化学结构为基础来解析药物的作用机制。

4.2.3　速率学说

Paton 和 Rang 提出的速率学说(rate theory)[5]，认为药物的生物效应只是在药

物与受体相接触的瞬间发生，受体的活化并不与被占据或结合受体的数目成比例，而是与单位时间内药物分子同受体相接触的总数成正比。这一学说与前述的学说的不同点是，不需要生成稳定的复合物以活化受体，药理活性只是药物与受体分子间结合速率和离解速率的函数，不是形成药物-受体复合物的函数。药物与受体的每一次接触，对生物效应形成一次“量子”刺激。

速率学说认为，激动剂与受体的结合与离解都很快，而且离解速率大于结合速率，因而单位时间内产生多次“量子”刺激(刺激脉冲)；拮抗剂的结合速率大于离解速率，因而可以解释拮抗剂的作用。速率学说可对某些实验现象做出合理的解释。例如某些拮抗剂在引发效应产生阻断作用之前，可以有短暂的刺激作用。总之，激动剂的特征是有较高的离解速率，部分激动剂有中等的离解速率，而拮抗剂的离解速率很低，在单位时间内药物与受体结合的次数少。

然而速率学说仍有不足之处，例如，有些激动剂容易同受体结合，而不能迅速的离解，这与速率学说的前提相矛盾，不能作出合理的解释，也不能从分子水平上解析为什么一个药物是激动剂，而与其结构相似的另一个药物却是拮抗剂。

4.2.4 诱导契合学说

诱导契合学说(induced fit theory)是 Koshland 基于底物-酶相互作用的过程而提出的。酶在底物分子的诱导下，酶蛋白的构象发生改变以适配于底物的结构[6]。在结晶状态下酶活性部位的形状和氨基酸残基在空间的分布未必与底物呈互补性，但与底物发生相互作用下，具有柔性和可塑性的酶活性中心被诱导发生构象变化，与底物分子发生互补性结合。这种构象的诱导变化是可逆性的，当产物或抑制剂离去后，酶的构象复原。激动剂与受体的诱导契合，使受体构象变化引起生物活性；拮抗剂虽与受体结合，但不能诱导同样的构象变化。

图 4-1 是维甲类受体 RXR 在与激动剂分子 9-顺式维甲酸(9-*cis*-retinoic acid，9-*cis*-RA)结合前后的构象变化。图 4-1(a)为未与 9-顺式维甲酸结合的 RXR 蛋白质构象，C 端的α螺旋(AF2)呈伸展构象，使结合腔呈开放状态。当 9-顺式维甲酸进入结合部位并结合后，该α螺旋(AF2)构象变为折叠状态，犹如一个桶盖，封盖了结合腔的开口，如图 4-1(b)所示。

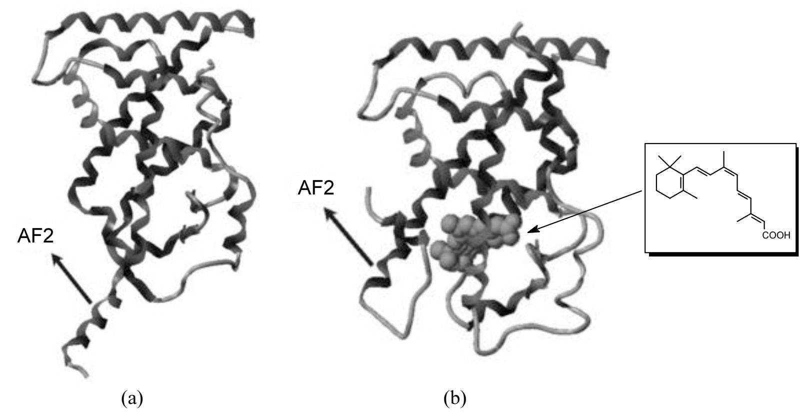


图 4-1　RXR 受体未与配体结合的构象(a)和与 9-*cis*-RA 结合后的构象变化(b)

罗格列酮(rosiglitazone，5)和 GI-262570(6)，为 γ-过氧化酶体增殖激活受体(PPARγ)激动剂，是胰岛素的增敏剂，用于治疗 II 型糖尿病的药物。

5　　　　6

这两个药物分子结构的左侧与 PPARγ的结合位点相同，因而在腔内的定位和取向基本可以重合。但右侧有较大的差异，GI-262570 末端的苯甲酰基占据有较大的空间，以致改变了 PPARγ一些氨基酸残基的构象，例如 Phe282，Phe360 和 Phe363 的位置与 PPARγ同罗格列酮结合的方式有较大差异。图 4-2 为 PPARγ分别与罗格列酮和 GI-262570 结合后氨基酸残基构象的变化。

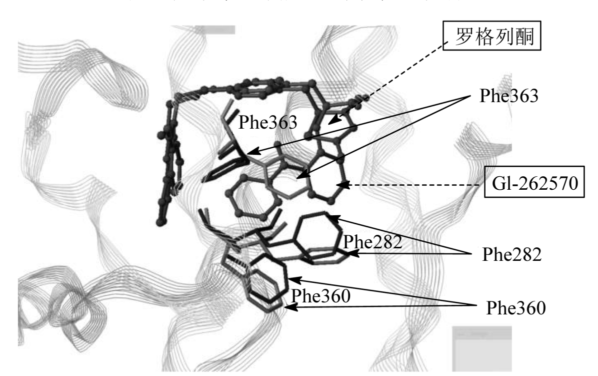


图 4-2　PPARγ分别与罗格列酮和 GI-262570 结合的构象变化示意图

应当指出，受体与药物之间的诱导契合是相互的，在受体构象变化的同时，药物分子也会发生构象的改变，例如上述的罗格列酮的最低能量构象(a)与同PPARγ结合的构象(b)是不同的(图 4-3)，在与受体的结合状态下，左侧的吡啶环发生了扭转。

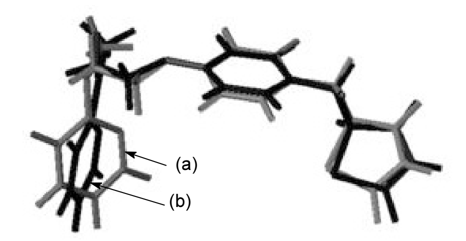


图 4-3　罗格列酮被受体诱导契合的构象变化

(a) 最低能量构象；(b) 结合后的构象

环孢素 A(cyclosporine A，7)是含有 11 个氨基酸的环肽，作为免疫抑制剂用于防止器官移植的排异效应。环孢素 A 在呈游离状态下，例如在氯仿溶液中，由于分子内氢键的形成和亲脂性基团之间的相互作用，采取了如图 4-4(a)的构象。在产生免疫抑制作用时，要与细胞内蛋白亲环素(cyclophilin)结合，形成复合物，在亲环素诱导下，环孢素 A 构象发生变化，分子内氢键解开，在环孢素 A 与亲环素之间形成分子间氢键[7](图 4-4(b))。

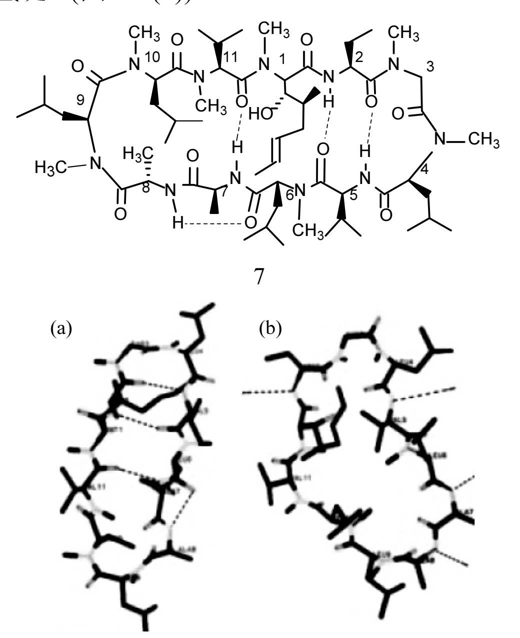


图 4-4　(a) 未与蛋白结合的环孢素 A 的构象，虚线为分子内氢键；(b) 环孢素 A 与亲环素形成复合物的构象，虚线为分子间氢键

4.2.5　大分子扰动学说

大分子扰动学说(macromolecular perturbation)是 Belleau 提出的[8]，与诱导契合学说相似。该学说认为，酶和底物、药物与受体发生相互作用时，需有构象的互补与适配，药物或底物对生物大分子的构象影响可有两种不同的扰动作用：一种是特异性构象扰动，是正常底物或激动剂与大分子的结合过程，因而产生激动作用；另一种是非特异性的构象扰动，往往是抑制剂或拮抗剂与大分子的结合过程，不呈现生理效应。药物若对生物大分子同时产生特异性和非特异性两种作用时，则为部分激动剂。从能量的观点看，无论哪种扰动作用，所产生的不同效应都与相对自由能变化有关。例如不同链长的三甲基烷铵(8)对胆碱酯酶的作用反映了这种情况。

$(H_3C)_2\overset{+}{N}(CH_3)-(CH_2)_nH$　　n = 1~12

8

表 4-2 列出了各个化合物与胆碱酯酶结合的热力学参数变化，当 $n = 1\sim8$ 时，化合物的焓和熵都发生有利于结合的变化(均为负值)，胆碱酯酶的构象发生有序或基本有序(±)的扰动，引起的生理效应是毒蕈碱样作用，这组化合物表现为完全或部分激动剂；当 $n = 9\sim12$ 时，尽管自由能变化较大，但熵的变化是不利的(正值)，胆碱酯酶的构象发生无序的扰动，不产生毒蕈碱样作用，这组化合物表现为拮抗剂。

表 4-2　$H(CH_2)_nN(CH_3)_3$ 类化合物与胆碱酯酶结合的热力学参数、构象变化和生理效应

n	ΔG^0 /(kcal/mol)*	ΔH^0/(kcal/mol)	ΔS^0/(kcal/mol)	构象变化	毒蕈碱样收缩作用/%
1	−3.59	−6.60	−10.1	有序	100
2	−3.81	−6.45	−8.9	有序	100
3	−3.92	−6.32	−8.1	有序	100
4	−4.20	−5.22	−3.4	有序	100
5	−3.76	−5.40	−5.5	有序	100
6	−3.92	−4.55	−2.1	有序	100
7	−4.08	−4.49	−1.4	±有序	60~80**
8	−4.34	−4.40	−0.2	±有序	20~40**
9	−4.53	−4.40	+0.44	±无序	5~10**
10	−4.97	−4.20	+2.4	±无序	0≠
11	−5.37	−2.76	+9.1	±无序	0≠
12	−5.85	−2.75	+10.4	±无序	0≠

*1 cal = 4.18 J；　**部分激动剂和部分拮抗剂；≠ 拮抗剂。

4.3　药物-受体相互作用能

药物在体内的随机转运中能够到达作用部位，并与受体分子产生特异性结合，导致这个过程的原动力是分子识别(molecular recognition)，分子识别体现在体内的许多过程中。细胞内许多生物化学或生物物理变化具有很高的特异性，构成了细胞的生长、增殖、分化、分泌以及运动等各种功能。配体与受体的相互作用，酶和底物的结合并导致的化学反应，抗原与抗体的特异性结合，DNA 双螺旋结构的形成和复制，DNA 对 mRNA 的转录和 mRNA 对蛋白质翻译的指导作用等，都是以分子间相互作用为基础，主导这些分子间相互作用的本质是分子识别。

4.3.1　分子识别与相互作用

两个分子之间的识别，是由于双方的多个特定的原子或基团在形状和性质上的互补性和空间的适配性所驱动的，构成了分子识别的特异性。分子识别的基本要素有多种，本质上均为物理和化学的互补性。药物与受体的分子识别并发生相互作用，大都是非共价键作用，形成共价键的场合较少，共价键的形成往往是不可逆的作用。药物与受体的非共价键作用与维持机体的生物大分子的空间结构的键合力在本质上相同的，例如维持 DNA 的双螺旋结构、蛋白质和多肽的α螺旋或β片层的二级或三级结构等均以氢键作用力所支配；酶催化发生分子变化，虽然后果是底物发生共价键的生成或断裂，但酶与底物的初始识别和结合是非共价键作用。非共价键作用是弱作用力，这种弱作用力虽然用实验方法难以测定，缺乏直观性，但用间接方法证明确实是存在的。众多的非共价键作用的总和，构成特异性的结合，以致结合强度与共价键键合力相近。

配体-受体结合的特异性，表现在这些非共价键的生成不需要越过较高的能垒，因而在动力学上是有利的。相互作用的离解常数 K_d 与热力学参数标准自由能(ΔG^0)呈如下关系：

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_d \tag{4-11}$$

式中，R 为气体常数，T 为热力学温度。在 T=310 K 的生理条件下，自由能(kJ/mol)与平衡常数的关系如式(4-12)表示：

$$\Delta G = -5.85 \log K_d \tag{4-12}$$

按照式(4-12)可由实验得到的 K_d 值计算药物与受体结合的自由能ΔG。例如某药物 A 与受体的结合常数为 10^{-6}mol/L，若将该复合物分解成游离的药物与游离

的受体分子，需要的能量约 35 kJ/mol，药物 B 的结合常数为 10^{-7}mol/L，则离解能为 41 kJ/mol。表 4-3 列出了在室温下结合的自由能变化与结合常数的关系。

表 4-3　结合自由能变化与结合常数的关系

结合自由能变化/(kJ/mol)	结合常数变化的倍数
2.1	2
4.2	5
6.3	13
8.4	29
10.5	68
12.5	158

由测得的离解常数 K_d 按照该公式可计算复合物的结合自由能ΔG。热力学告诉我们，系统自由能变化与焓和熵成如下关系：

$$\Delta G^0=\Delta H^0- T\Delta S^0 \tag{4-13}$$

式中，ΔH^0 为系统的焓变，ΔS^0 为熵变，T 为热力学温度。所以，支配分子识别和结合的作用力可分两个方面：焓作用和熵作用。焓因素包括静电作用和立体作用；熵因素包括疏水作用，转动熵和平动熵，以及构象熵等。

4.3.2　药物-受体的结合类型

为了能够深入地了解药物作用的方式与机制，需要考察药物与受体的相互作用力。就本质而言，这种作用与简单分子之间的相互作用是相似的，也与为稳定蛋白质的三级结构的作用力有许多相似之处。表 4-4 列出了药物-受体形成复合物的作用力类型、强度和有代表性的实例。

表 4-4　药物-受体相互作用的类型

键型	键能/(kcal/mol)	举例
增强离子键	−10	$R(H)N^+H_2$ ⋯ $O=C(R')-O^-$
离子键	−5	$R(H)N^+H_2$ ⋯ I^-
离子-偶极键	−1∼−7	$R(H)N^+H_2$ ⋯ $:NR_3$

续表

键型	键能/(kcal/mol)	举例
偶极-偶极键	−1∼−7	$O{=}C^{\delta+}\cdots\cdots NR_3$
氢键	−1∼−7	$=O\cdots\cdots HO-$
电荷转移	−1∼−7	$-OH\cdots\cdots C{=}C$
疏水相互作用	−1	CH_2 CH_2 R / CH_2 CH_2 R
π-阳离子相互作用		N^+
范德华作用	−0.5∼−1	$C\cdots\cdots C$

4.3.2.1　影响焓变的相互作用

药物与受体发生的相互作用，其驱动力是由于系统自由能发生了有利的变化，系统的自由能包括焓变和熵变。影响焓变化的因素包括有离子-离子作用，离子-偶极作用，氢键结合作用和范德华作用等。

1. 离子-离子作用

正负离子间的静电引力，产生离子-离子相互作用(ion-ion interaction)，这是最熟知和容易测量的作用能，其本质是一个分子带正电的原子核与另一分子的带负电的电子的吸引力，用库仑定律表征。

$$E = \frac{q_1 \times q_2}{D \times r} \tag{4-14}$$

式中，E 为静电作用能；q_1 和 q_2 为相互作用原子的电量；D 为介电常数；r 为电荷之间的距离。当介质为水时，D 为 79，在疏水环境中 D 为 40，在蛋白质分子表面的 D 值通常定为 28，蛋白质内部的疏水腔中 D 值可低至 4。

离子-离子静电作用无方向性，对随机转运过程中的药物分子与受体的初始识别，趋近和结合具有重要作用。静电作用能与距离的一次方成反比(注意：静电作用力与距离的平方成反比)，是随着距离的加长能量变化最慢的引力，因此在受体与药物的离子间的识别表现为长程作用。

构成蛋白质和多肽的酸性氨基酸残基如天冬氨酸和谷氨酸，在形成肽键后仍含有游离羧基，在生理 pH 条件下可部分离解成负离子；碱性氨基酸残基如赖氨酸和精氨酸的游离氨基可被质子化形成正离子；核酸的磷酸基具有负电荷。这些离子可与含有相反电荷的药物分子(持久性电荷如季铵离子和磺酸基，部分离解性基团如羧酸和氨基等)可发生离子-离子相互作用。

从理论上讲，两个相反电荷载相距 3Å 以内的静电作用能一般超过 100 kcal/mol，但在水溶液中，由于离子的水合作用使作用能显著降低。此时去水合作用是耗能过程，与静电引力对复合物形成的能量贡献是相反的。此外，熵效应对该过程也起着作用。离子-离子相互作用能一般为$\Delta G = -5$ kcal/mol，如果分子内有其他作用力存在，则会进一步加强静电引力到$\Delta G = -10$ kcal/mol，而且作用更持久。然而乙酰胆碱的季铵盐基团并非与受体的负电中心结合，而是与氨基酸的芳香环形成正电荷-π电子相互作用。

2. 离子-偶极作用

静电引力未必都是电荷-电荷间的作用。离子-偶极作用(ion-dipole interaction)是在带电荷的原子或基团与含有偶极的基团之间的静电引力。电负性强的元素如氧、氮和卤素等原子与碳原子形成的共价键是极性键，碳原子的电荷密度降低，有部分正电性，氧、氮和卤素等杂原子有负电性，因而酰胺、酯、醛、酮、醚和卤化物等均构成偶极键。药物分子和受体分别存在电荷和偶极并发生相互作用时，用式(4-15)表征：

$$E = \frac{N \times q \times \mu \times \cos\theta}{D \times (r^2 - d^2)} \tag{4-15}$$

式中，N 为阿伏伽德罗常数，q 是电荷电量；μ为分子的偶极矩；θ是偶极方向与电荷至偶极中心连线的夹角；D 为介电常数；r 为电荷至偶极中心的距离；d 为偶极长度。偶极矩是个向量，具有方向性，电荷与偶极的取向的不同可影响相互作用的强度，随方向的变化而增强或减弱，体现了特异性相互作用。离子-偶极作用能与距离的平方成反比，仍属于长程作用，但弱于离子-离子作用能。

基质金属蛋白酶的活性中心如锌离子可与原子的未偶电子对发生配位结合，例如与巯基、咪唑环或氧肟酸的硫或氮原子结合，这些基团对于金属蛋白酶与抑制剂形成复合物有重要作用[9]。

3. 偶极-偶极作用

两个偶极分子或偶极键之间发生的静电引力，称作偶极-偶极作用(dipole-dipole interaction)，其作用能取决于两个偶极矩μ_1和μ_2的强度，和两个偶极的方向与偶极中心的两个夹角的余弦 $\cos\theta_1$ 和 $\cos\theta_2$，以及两个偶极中心间距离 d

和介电常数 D，如式(4-16)所示：

$$E = \frac{2 \times \mu_1 \times \mu_2 \times \cos\theta_1 \times \cos\theta_2}{D \times d^3} \tag{4-16}$$

式(4-16)表明，偶极-偶极作用能与距离的三次方成反比，意味着该作用弱于离子-偶极作用。

由于受体和药物分子中元素电负性存在的差异，从而广泛存在着偶极键，所以这类作用的总和是相当可观的，对维持特异性识别和结合有重要的贡献。在疏水环境中发生的静电作用能强于水或电解质溶液中，系因水分子对偶极或电荷有屏蔽作用，减弱了静电作用能。图 4-5 表示了乙酰胆碱与受体间的偶极作用。

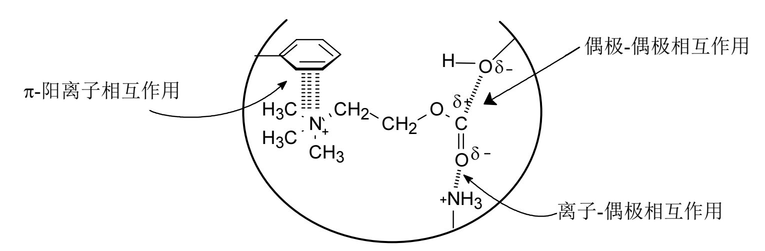


图 4-5　乙酰胆碱与受体间的偶极相互作用

4. 氢键作用

由于氢原子核外只有一个电子和较低的元素电负性，当氢原子与强电负性原子相连时，导致成键电子的偏移，使氢原子具有部分的正电性，犹如裸露的原子核，可与带有未偶电子对的原子形成静电引力，这就是氢键。氢键的键长一般小于范德华半径之和，例如 N—H···O 的氢键距离为 2.8~3.2 Å。形成氢键时提供氢原子的一方为氢给体(hydrogen bond donor)，提供未偶电子对的原子为氢接受体(hydrogen bond acceptor)。

氢键在生物系统中占有重要地位，例如维持 DNA 的双螺旋结构是靠碱基对之间的氢键维持，在腺嘌呤 A 与胸腺嘧啶 T 间形成两个氢键，鸟嘌呤 G 与胞嘧啶 C 间形成三个氢键(图 4-6)。维持蛋白质α螺旋或β片层是靠酰胺中的氧与另一残基的 H－N 氢之间形成氢键(图 4-7)。氢键的相互作用能大约为−13~−21 kJ/mol。

腺嘌呤 A　胸腺嘧啶 T　鸟嘌呤 G　胞嘧啶 C

图 4-6　DNA 中碱基对的氢键

图 4-7　蛋白质的α螺旋的构象

氢键具有方向性，例如 N—H…O=C 的氢键 N—H…O 的键角为 150°~180°；C=O…H 的键角为 100°~180°。所以，在药物与受体形成氢键时，双方识别过程的原子或基团在空间上需要有适宜的位置和距离，这种空间配置和取向决定了特异性结合。生物体内的氢键类型列于表 4-5 中。

表 4-5　生物体内氢键的类型

氢键类型	来源
	两个羟基间的氢键
	羧酸负离子与酪、丝氨酸羟基形成的氢键
	羧酸负离子与铵离子形成的氢键
	酪、丝氨酸羟基与肽链羰基的氢键
	两个肽链间形成的氢键

雌二醇与雌激素受体结合的一个重要特征是 3 位酚羟基同时与 Glu 363 和 Arg 394 和结构水(W)形成 3 个氢键(图 4-8(a))，酚羟基既是氢键的接受体，也是氢键

的给体。而黄体酮的 3 位酮基只作为氢键的接受体与孕激素受体蛋白形成氢键网络(图 4-8(b))。

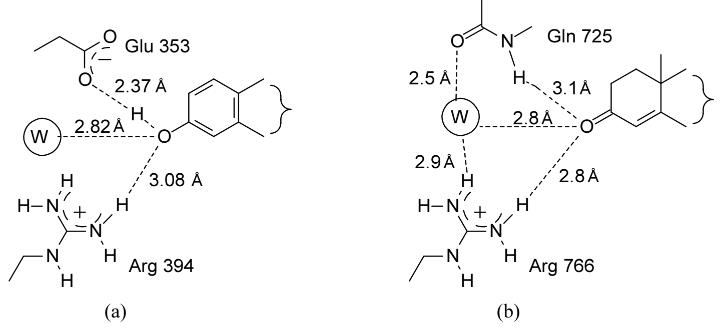


图 4-8　雌二醇与雌激素受体(a)和黄体酮与孕激素受体(b)氢键结合的示意图

抗生素万古霉素(vancomycin)为含有 7 个氨基酸的糖肽，其中 6 个构成了三个特殊的环肽。作为抗革兰氏阳性菌药物，抑制敏感菌的细胞壁合成。其作用机制是与合成细胞壁的前体 D-丙氨酰-D-丙氨酸形成 5 个氢键的交叉连接网络，这种强力的结合终止了胞壁的合成。对万古霉素耐药菌株是 D-Ala-D-Ala 变异成 D-Ala-D-Lac，其中一个丙氨酸变异成乳酸，NH_2 被 OH 替换，缺少了氢键给体，使结合力降低了 1000 倍。图 4-9 是万古霉素分别与敏感株的 D-Ala-D-Ala(a)和耐药株的 D-Ala-D-Lac(b)的结合示意图。

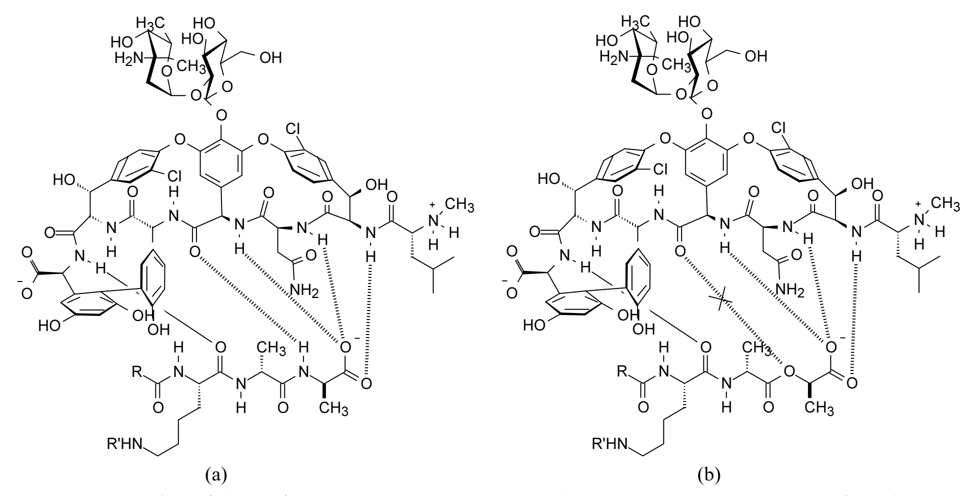


图 4-9　万古霉素与敏感株的 D-Ala-D-Ala(a)和耐药株的 D-Ala-D-Lac(b)的结合示意图

一些抗肿瘤药物对 DNA 碱基的嵌入或烷化，会影响氢键的形成，从而破坏了 DNA 的双螺旋结构。

5. 阳离子-π相互作用

芳香环的π电子云具有较大的四极矩，可与阳离子发生相互作用，在分子识别和结合中有重要贡献[10]。阳离子-π相互作用(cation-π interaction)是由有机或无机阳离子与π电子体系的负电势之间形成的静电引力形成的，能量强度与氢键相近。有机阳离子与苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸的芳香环的结合力大约为–8～–16 kJ/mol，在水介质中，阳离子-π作用强于盐键。药物与受体之间发生阳离子-π相互作用，可以是双向的，药物分子的阳离子可与蛋白质中的芳香环π电子面形成阳离子-π相互作用；蛋白质中的精、赖、组氨酸等在生理 pH 条件下可被质子化，形成的阳离子可与药物分子中的芳香环π电子结合。乙酰胆碱与乙酰胆碱酯酶的结合是经季铵离子与芳香氨基酸残基的π电子相结合，与蟾蜍乙酰胆碱受体的结合是季铵离子与α-亚基的 Trp149 发生阳离子-π相互作用。图 4-10 是乙酰胆碱的季氮离子与乙酰胆碱酯酶结合部位的芳香环π键的相互作用。又如凝血因子 Xa 与其含有季铵侧链的三环化合物抑制剂的晶体结构表明，季铵离子与酶的 Tyr99，Phe174 和 Trp215 形成阳离子-π结合的网络，其结合能强于三个芳香环形成的疏水腔与相应含叔丁基侧链的化合物[11]。图 4-11 是凝血因子 Xa 与抑制剂的季铵离子-π相互作用的示意图。

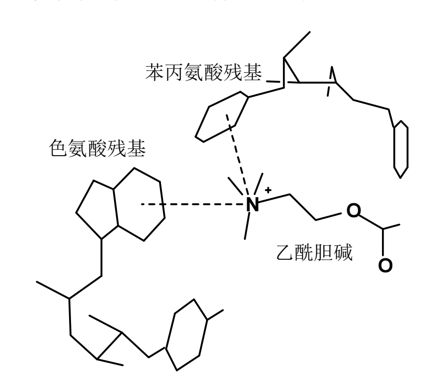


图 4-10　乙酰胆碱的季铵离子与乙酰胆碱酯酶结合部位的芳香环π键的相互作用

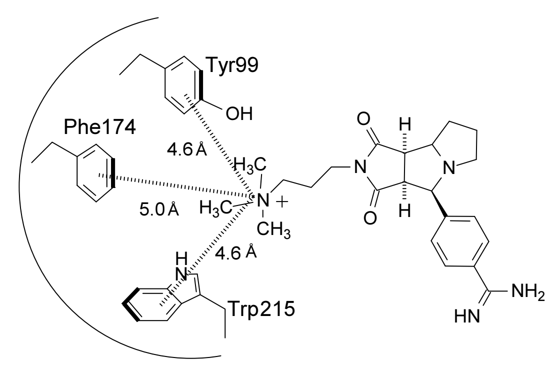


图 4-11　凝血因子 Xa 与抑制剂的季铵离子-π相互作用示意图

6. 电荷转移作用

当分子或其结构片段是良好的电子给体，并以适宜的方向与另一接受电子的分子或片段相趋近时，给体可将部分电荷转移到接受体上，该过程称作电荷转移作用(charge-transfer action)。电荷转移作用可认为是分子之间的偶极-偶极相互作用，能量大约为–21 kJ/mol。电荷转移的能力与给体的电离势或最高占据轨道能(HOMO)和接受体对电子的亲和力或最低空轨道能(LUMO)之差值成正比，相差越大，转移能越强。例如含有取代的苯甲酰基的 5-HT2a 受体拮抗剂，苯甲酰基作为电荷的接受体与受体分子中的色氨酸(电荷的给体)发生电荷转移作用，构效关系研究表明，取代的苯甲酰的 LUMO 与活性有显著的相关性。

电荷的给体大都是富含电荷的分子或基团，例如烯、炔、含推电子基团的芳环、含孤电子对的杂原子等。蛋白质中酪氨酸残基的羟苯环，天冬或谷氨酸的羧基是电子给体；电荷接受体是缺电子基团，例如烯、炔、含拉电子基团的芳环或含有弱酸性氢的基团等。半胱氨酸的巯基是电荷接受体。组氨酸、色氨酸、天冬酰氨等残基既是电荷的给体也是接受体，取决于对方的电荷状态。研究表明，抗真菌药四氯二氰苯(电荷接受体)与真菌蛋白的酪氨酸残基(电荷给体)发生电荷转移，两个芳环呈平行配置是必要条件，如图 4-12 所示。抗疟药氯喹嵌入到疟原虫 DNA 链中并与之与结合，也是电荷转移作用。

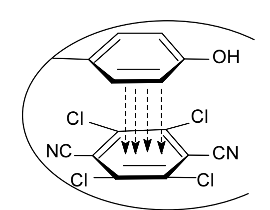


图 4-12　四氯二氰苯与酪氨酸残基的电荷转移示意图

7. 螯合作用

具有供电子基团的化合物与金属离子结合并形成环状结构的化合物，称作螯合作用(chelation)。与金属离子形成螯合物的物质称作配位体。配位体上供电子的基团只限于含氮、氧和硫原子的基团。分子中只含 2 个供电子基团的称作二齿配位体(bidentate)，与金属螯合生成单环化合物；含 3 个以上供电子基团的称作三齿(tridentate)或多齿(polydentate)配位体，可形成两个或更多的螯合环。

螯合环最常见和稳定的是五元和六元环，含硫的四元螯合物也是稳定的，三元螯合环却很难形成。体内有许多可发生螯合作用的物质，如氨基酸、蛋白质和三羧循环中某些羧酸等都是良好的配位体。体内存在的可螯合的金属离子有铁、镁、铜、锰、锌和钴等，它们是血红蛋白和许多酶系的必需的辅基。

体内某些 2 价或 3 价金属离子浓度过高，会引起中毒，许多螯合剂可用作解

毒剂。例如二巯基丙醇可作为锑、砷、汞和金的螯合解毒剂。

消旋青霉胺(penicillamine，9)可与铜离子形成 1 : 1 螯合物(10)或 2 : 1 螯合物(11)，特别是 2 : 1 铜螯合物，含有两个可离解的羧基，水溶性很好，因此青霉胺作为铜的解毒剂，用于治疗因铜排泄作用降低产生铜蓄积引起的肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration)。

9　　10　　11

去铁胺(deferoxamine，12)是含三羟肟酸的化合物，由 3mol 戊二胺、2mol 琥珀酸和 1mol 乙酸氧化缩合而成，可与 Fe^{3+}螯合生成水溶性化合物，用于原发性和继发性血色病和小儿铁中毒，被螯合的铁由尿中排出。生成的螯合物非常稳定，系因 1 个 Fe^{3+}与 3 个羟肟酸的 6 个氧原子相结合：

12

乙二胺四乙酸(EDTA)和二巯基丙醇(BAL)合用，对于解铅中毒有良好的协同作用。BAL 可进入细胞内，与胞浆中铅离子螯合，EDTA 与血浆中的铅结合。

螯合剂或生成的螯合物有时呈现细胞毒作用。8-羟基喹啉(oxine，13)的杀菌作用是与高铁离子形成 1 : 1 或 2 : 1 螯合物，与细菌表面结合而杀菌，而 3 : 1 螯合物无杀菌作用。羟基或喹啉的氮原子被甲基化都因失去螯合作用而无杀菌活性。

13　　有活性　　有活性　　无活性

抗肿瘤药顺铂(cisplatin，14)的铂离子与核酸中两个相邻的鸟苷(供电子体)形成三元复合物，使核酸发生交叉连接而失活。铂离子应具有方形平面结构和顺式构型，氯或其他易离去基团的存在也是必要的。

丙亚胺(razoxane，15)和阿霉素都是抗肿瘤药物，前者在细胞内水解成 EDTA 样分子，与癌细胞中必需的金属离子发生螯合作用；阿霉素嵌合于 DNA 双螺旋中，引起 DNA 链的断裂。有趣的是，丙亚胺的代谢物与铁离子螯合，减少了阿霉素与铁的复合物的生成，阿霉素与铁结合是引起脂质过氧化、产生心肌毒性的主要原因，所以丙亚胺与阿霉素合用有降低阿霉素毒性的作用。

14　　15

8. 范德华作用

分子中原子的振动导致原子核与核外电子有瞬息的偏移，产生瞬息偶极。当两个未成键原子互相靠近，会有短暂的吸引力，即范德华作用(van der Waals interaction)，又称色散力(dispersion force)。范德华引力的瞬息作用时间为 10^{-8}s，而且非常微弱，每对原子的作用能为−0.5 kcal/mol，且与原子间距离的 6 次方成反比，因此在药物与受体相互作用时，只有当原子靠近到 4~6 Å 时方可出现。然而，因为所有原子或基团间都存在范德华作用，当受体与药物的众多原子和基团在空间上配置适宜和接近时，这种作用就成为重要因素，表现为特异性作用。由原子中心到可允许另外原子进入到最近的空间外廓间距离，称为范德华半径，范德华半径与共价键长相比要长得多，表 4-6 列出了常见原子和基团的范德华半径和共价健半长的数值。

表 4-6　一些常见原子和基团的范德华半径和共价键半长

原子或基团	范德华半径/Å	共价键半长/Å
H	1.20	0.30
O	1.40	0.74[a]　0.62[b]
S	1.85	—
F	1.35	0.64
Cl	1.80	—
Br	1.95	1.14
I	2.15	1.33
C		0.77[a]　0.67[b]
CH_3	2.00	
P	1.90	1.10
N	1.50	0.74[a]　0.62[b]
NH_2	2.10	—
苯环的一半厚度	1.70	—

注：a：单键；b：双键。

9. 芳环-芳环相互作用

芳环与芳环之间的相互作用虽然较弱，但在分子识别和结合中很重要。虽然芳环之间的作用类似于色散力，但疏水相互作用也是一种动力，而且芳环的四极矩也有静电引力的贡献，所以，芳环-芳环相互作用含有复杂的因素。两个芳环的堆积(stacking)是π−π相互作用，呈三明治样的叠合(图 4-13(a))，或由于两个芳环的电荷密度的不同，有拉电子基团的一方氢原子呈弱酸性，可与另一芳环的π电子作用以平行的方式(图 4-13(b))或 T 形方式(图 4-13(c))结合。

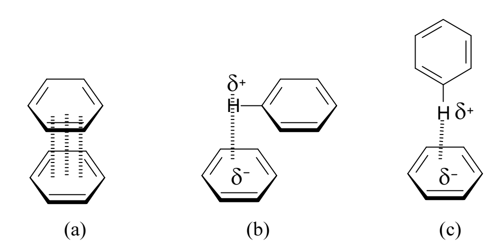


图 4-13　芳环-芳环相互作用的模式

(a) 为π−π堆积作用；(b)为平行结合；(c)为 T 形结合

4.3.2.2　影响熵变的相互作用

药物分子和受体在结合之前，分子的运动和采取的构象处于自由的状态：分

子自由地转动和平动，柔性键自由地旋转，所以药物分子以多种构象存在。当药物和受体相互识别和结合时，药物分子和受体的结合部位采取特定的形状和构象，降低了移动和转动的自由度，升高了体系的有序状态，熵效应发生变化。影响药物-受体结合的熵变因素，包括转动和平动自由度受阻、疏水作用、构象限制和疏水固缩作用。

1. 转动和平动自由度受阻(不利的熵变)

药物分子在体内的随机转运有较大的自由度，在三维空间中可自由地转动和平动，当与受体识别和结合时，被“固定”在结合部位，失去了三个转动自由度和三个平动自由度，使得系统有序程度增高，使熵值(entropy，ΔS)变小，这对结合自由能变化是不利的，不过这一部分熵的损失可从系统的有利焓变得到补偿，因为药物与受体结合的焓变(enthalpy，ΔH)是正贡献。焓-熵补偿(enthalpy-entropy compensation)是非共价键相互作用的基本性质：增加分子间的结合伴随着减少分子运动的自由度，总能量(ΔG)决定了药物-受体复合物的牢固程度。对于弱结合作用系统，熵值损失大约为 12 kJ/mol，而强结合作用的复合物的熵损失可高达 60 kJ/mol[12]。

另一方面，柔性药物分子采取的多种构象会因与受体结合时构象受到限制。根据计算，分子内每个旋转键受阻熵损失为 1~1.5 kcal/mol。刚性分子与受体的结合构象变化较小，因而与受体结合的熵变比柔性分子有利。

2. 疏水作用(有利的熵变)

在药物化学中，描述非极性化合物的性质常常使用亲脂性(lipophilicity)和疏水性(hydrophobicity)概念，并交互使用这两个术语。虽然亲脂性和疏水性有很多相似处，但仍有不同的含义。亲脂性是指分子、片段或基团对脂相溶剂的亲和力；疏水性系指分子或非极性片段或基团之间在水相中的结合作用，这是由于水分子排斥非极性分子而产生的。从宏观上看，亲脂性和疏水性产生的后果基本是相同的，因此在药物化学中往往不再区分二者之区别。

碳元素的电负性与氢相近，碳-氢键的极性较小，烃基不能形成氢键。非极性化合物不溶于水，不能被水溶剂化，但在化合物周围必然有水分子的围绕，这些水分子有序地排列在化合物的周围。因此，非极性化合物有很强的互相联合的趋势，以减少与水接触的界面，使界面上有序排列的水分子减少，熵值增高，使系统自由能降低。非极性分子之间的融合得越多，与水分子的接触表面越小，熵值的增高与非极性分子的表面积成反比。这种非极性分子或基团相互融合和收缩，增加系统中水分子的无序状态的推动力即疏水作用。

疏水作用与分子中疏水基团和片段的数目成正比，烷基越多，疏水性越强。两个亚甲基疏水作用释放的能量大约为 0.7 kcal/mol，能量虽然较小，但众多烷基

或亚烷基间的疏水作用可形成较强的结合力。

图 4-l4 是药物分子与受体间疏水相互作用的模式图。非极性区域的接触与融合，将一些原来规则排布在药物和受体疏水面的水分子，“挤”出成无序状态，从而造成系统中熵值的增加，降低了自由能，稳定了药物和受体的疏水区域的相互作用。

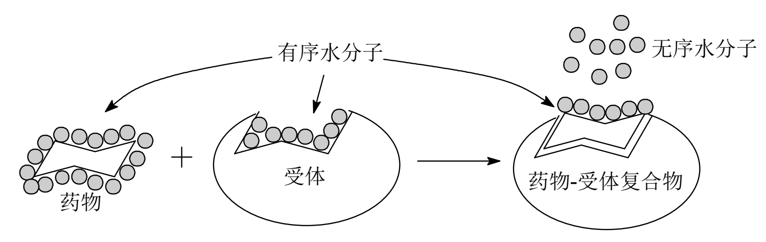


图 4-14　药物-受体疏水作用的模式图

构成蛋白质的氨基酸侧链若为疏水性基团，例如苯丙、异亮、亮、缬和甲硫氨酸的苄基、烷基和硫醚基，在相近的空间可互相融合，这种疏水堆集(hydrophobic collapse)形成蛋白质的疏水腔(hydrophobic pocket)或疏水缝隙(cleft)，这些腔穴和缝隙可与药物分子的疏水基团或片段发生疏水相互作用。

其实疏水作用也有焓贡献。在结合前水分子占据了疏水结合位置，不能与蛋白形成氢键。当水分子被释放后，这些原来有序水分子与其他水分子缔合成氢键。而且疏水基团之间的接触也会因色散力而起到有利作用。

维生素甲与维甲结合蛋白的结合以疏水作用为推动力，离解常数 K_i=190，结合自由能相当于−38kJ/mol。X 射线晶体学研究表明它们之间没有氢键作用，维生素甲的分子总表面积为 326Å，其中 295 Å(90%)结合于蛋白的疏水表面[13]。

前已述及，芳香环之间的相互作用可促使蛋白质分子中空间相近的苯环之间有相互接触的趋势[14]，从而在π—π作用上发生有利的相互作用。苯环还因为有较大的可极化度，可与季铵正电荷相互作用。

3. 构象限制(不利的熵变)

游离药物分子中非共价键连接的原子在三维空间的分布和它们之间的相互作用，是决定药物构象的主要因素。柔性药物分子由于单键的旋转，存在有许多构象体，以低能构象群占优势。柔性分子在溶液中采取多种低能构象体，并处于平衡状态，呈正态分布。构象体之间的势能差异对平衡态下存在的比例有很大的影响，表 4-7 列出了势能差异与构象体比例的关系。

表 4-7　构象体的比例与势能差的关系

低能构象体 : 高能构象体	55 : 45	85 : 15	99.5 : 0.5	99.9 : 0.1
势能差值/(kJ/mol)	0.42	4.19	12.56	20.93

药物与受体分子发生相互作用，若结合的构象是最低能量构象，则能量损失较小。但若与受体结合的药物分子处于高能构象，则需要得到能量补偿。而且由于药物分子与受体的结合，柔性键的自由转动受到阻碍，构成对结合不利的熵损失。计算表明，分子内每个单键受阻的熵损失为 5~6 kJ/mol。刚性分子与受体结合时，一般不发生构象变化，故对结合的负面影响比柔性分子为小。

4. 疏水固缩作用

疏水固缩作用(hydrophobic collapse)系指疏水性分子在水相中，由于发生去水合作用引起的构象变化。疏水性分子在水溶液中的构象与在有机溶剂中有明显不同，这对疏水性柔性药物分子在水相中采取的活性构象有重要影响。疏水固缩既有疏水聚集作用，也有氢键和π−π相互作用[15]。

水分子对疏水性柔性分子与受体结合前与结合后的构象有非常重要的影响。例如环孢素 A 的类似物[D-(MeSer)$_3$-D-Ser-(*O*-Gly)$_8$]CS 为水溶性化合物，其疏水性侧链的聚集，以及酰胺键同水分子的亲水相互作用，共同稳定了活性构象，在极性的 d$_6$-DMSO/D$_2$O 中经 NMR 测定得到的构象与在氘标记的氯仿中的构象不同，在极性溶剂中的构象与环孢素 A 同受体亲环素(cyclophilin)形成的复合物构象非常相似[16]。

紫杉醇类似物多西他赛(paclitaxotere，16)在结晶状态下 2 位的苯甲酰基与 13 位侧链的叔丁氧羰基形成疏水聚集(图 4-15 灰色结构)，但在极性溶剂和水的作用下，2 位苯甲酰基与 13 位侧链的 2′位苯基形成疏水聚集(图 4-15 黑色结构)，后者与紫杉醇同微管蛋白结合的活性构象相同[17]。

16

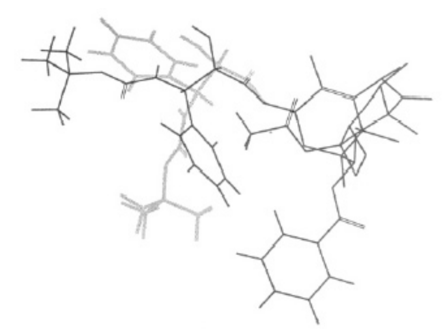


图 4-15　多西他赛的晶体结构(灰色)，2′位苯环远离 2 位苯甲酰基；在极性溶剂中显示两个苯环(黑色)形成疏水聚集

4.3.2.3　立体因素对药物-受体相互作用的影响

受体对药物的识别和结合过程是在三维空间中进行的，适宜的立体配置是实现结合过程的重要前提。药物与受体分子的立体化学，包括结构骨架、原子和功能基在空间的位置(构型和构象)都起着重要作用。

1. 构型对药物作用的影响

影响药物-受体相互作用的立体因素，除构象外，还需考虑药物分子的构型。有机分子的构型是指分子中原子或基团共价连接于刚性骨架(双键或环系)或不对称的手性部位，造成在空间排列不同的异构现象。因此又分几何异构体和旋光异构体。图 4-16 是构型异构体与互补受体的不同契合。假定药物与受体之间特异性作用，至少有 3 个功能基团参与，因而旋光异构体活性的差异可以解释为只有 1 个对映体能够满足与受体发生适宜的契合。左图的(+)对映体的 3 点 A、B 和 C，满足了与手性受体中心 A′、B′、C′的最适结合；而(–)对映体只能有两点结合，这种不利的结合使(–)型活性低下或无活性。几何异构的顺式和反式体与受体的平面结合也同样是有差别的。关于构型异构体的活性差别除了与受体直接作用的影响外，还要考虑到药代动力学的因素。

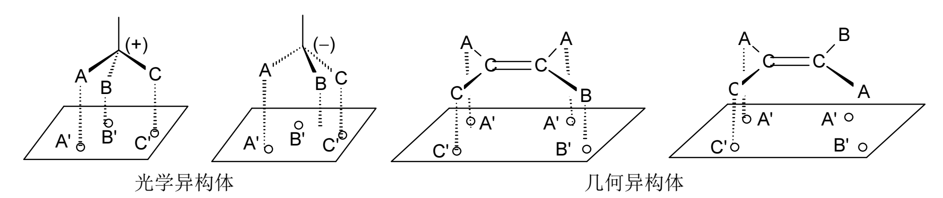


图 4-16　药物的构型对受体结合影响的示意图

旋光异构体和几何异构体在穿越生物膜(吸收、分布和排泄)以及生物转化的速率是不一样的。旋光异构体之间除旋光性不同外，其他物理化学性质都是相同

的。但在与其他非对称物质相互作用或处于非对称环境中时，则显示出差异。例如在转运中与其他手性分子如转运蛋白的结合是不相同的，因而到达靶器官的两种旋光异构体的药量或浓度不同。酶催化的反应通常是立体特异性的，被生物转化的旋光异构药物因而也有很大差别。几何异构体之间是两个完全不同的物质，物理化学性质如 pK_a、溶解度、分配系数等都不同，吸收、分布和排泄的速率不同，因而药代动力学性质有很大差异。

立体异构体在药代动力学和药效学两个方面既然都有差别，弄清楚这种差异究竟各占多少比例显然是很重要的。通常用离体的组织或器官进行实验，对解析立体异构体与受体相互作用的差异是很有效的。表 4-8 列举了一些立体特异作用的药物，这些异构体的生物活性的差异是由于同受体作用的差异引起的。

表 4-8　药物的立体特异性

药物及作用类型	结构	异构体活性
	几何异构体	
氯丙硫蒽(抗精神病药) *trans*-chloroprothixene	S; Cl; H_3C; N; CH_3; H	反式比顺式的活性高 5~50 倍
己烯雌酚(雌激素激动剂) diethylstilbestrol	OH; HO	顺式无活性
	光学异构体	
氯苯那敏(抗过敏药) chlorophenamine	Cl; ★; C; H; N; CH_3; N; CH_3	(+)-对映体活性比(–)-对映体强 12 倍
氨氯地平(降压药) amlodipine	Cl; O; O; ★; H_3C; O; O; CH_3; H_2N; O; N; H; CH_3	只有 *S*-(–)-对映体有活性
α-甲基多巴(降压药) *α*-methyldopa	HO; HO; ★; O; OH; H_3C; NH_2	只有(–)-对映体有活性

续表

药物及作用类型	结构	异构体活性
美沙酮(镇痛药) methadone	$H_5C_2C(=O)-C(C_6H_5)_2-CH_2-C^{\star}H(CH_3)-N(CH_3)_2$	只有(–)-对映体有活性

2. 药效构象－构象异构

分子中由于单键的自由旋转引起原子和功能基在三维空间相对位置的改变，称作构象异构。一般而言，刚性分子的构象是固定的，而柔性分子由于单键的自由旋转，原子和基团在空间的位置就不固定了，因而分子的构象或形状也不同，所形成低能量的构象群处于动态平衡。低能量构象又称优势构象，药物呈现药理活性的构象称作药效构象，药效构象的能量一般较高于优势构象。

许多内源性物质如活性肽和神经递质为柔性分子，在体液中可采取多种低能构象，与相应的受体结合引发特异的效应。例如乙酰胆碱(17a)在结晶状态下为参差式构象(17b)，在水溶液中成邻位交叉式(17c)，为了揭示乙酰胆碱与烟碱样受体或毒蕈碱受体结合呈现激动作用时是否有不同的构象，可用构象限制类似物(conformationally restricted analogue)加以证明。例如(+)-反式-2-乙酰氧基环丙基三甲铵(18)模拟参差式构象，其毒蕈碱样活性与乙酰胆碱相当，但无烟碱样作用；(–)-反式体(19)和(±)-顺式体(20)均无毒蕈碱和烟碱样作用，说明乙酰胆碱产生毒蕈碱样作用的构象体为参差式构象。

17a　　17b　　17c

18　　19　　20

整合素(integrin)受体家族识别并结合配体的氨基酸序列为 Arg-Gly-Asp (RGD，21)，是血小板聚集和许多生理过程的重要片段，血小板活化和聚集是发生血栓病的重要因素，导致纤维蛋白原与血小板 IIb/IIIa 受体结合。蛇毒或水蛭素中含有 RGD 的线形或环状肽结构，阻断 IIb/IIIa 受体活化，从而抑制血小板的聚集。含有或模拟 RGD 结构的肽或拟肽有可能成为抗血栓药物。用 ^{1}H NMR 研究了对 IIb/IIIa 受体有强效抑制作用的环肽(22)，证明甘氨酸-天冬氨酸的构象为β转折，作为碱性基团的精氨酸的胍基和酸性的天冬氨酸的羧基，被这三个氨基酸骨架隔离和支撑，在空间构成特定的构象配置，羧基碳原子与胍基氮原子的距离为 15~16 Å[18]。非肽类 IIb/IIIa 受体拮抗剂拉米非班(lamifiban，23)和西拉非班(sibrafiban，24)是作用于 IIb/IIIa 受体的抗血栓药。

精氨酸　甘氨酸　天冬氨酸

21　　22

23　　24

4.3.2.4　蛋白-蛋白相互作用

蛋白-蛋白相互作用是指蛋白分子之间的结合作用，生命过程中的许多生物化学，信号转导和网络通路是由于细胞内发生的蛋白-蛋白相互作用而调节的。信号转导尤其在许多生物过程和疾病的发生中具有重要作用。蛋白-蛋白相互作用具有多种表现形式，例如发生长时间的相互作用形成蛋白复合物；一个蛋白可作为载体转运另一个蛋白分子，例如在胞浆与细胞核之间的蛋白转运，或者一个蛋白与另一蛋白的作用只是起结构修饰作用，例如蛋白激酶将磷酸基加到靶蛋白分子上，从而改变了蛋白-蛋白的相互作用。这些过程对于药物分子设计是重要依据。

蛋白-蛋白相互作用虽然发生在相当大范围的蛋白分子表面上，但一般体现在含有紧凑而集中的氨基酸残基区域，这些区域称作热点(hot spot)，这些热点是蛋白-蛋白相互作用关键位点，X 射线晶体学和位点突变技术证实了这个论断。许多蛋白分子可以结合不同的受体蛋白，产生不同的功能，但在结合时使用的是相同热点，这些热点是在不同的结构域中采用相同的氨基酸残基而实现的。例如免疫球蛋白的 FC 结构域分别与三种蛋白配体和一种噬菌体蛋白共结晶，经 X 射线晶体学研究表明这 4 种蛋白配体具有共同的热点。图 4-17 是免疫球蛋白与配体结合的热点示意图，图中白色为疏水作用，曲线勾画的是氢键结合部分，Glu380 与 Arg255 形成盐桥键[19]。

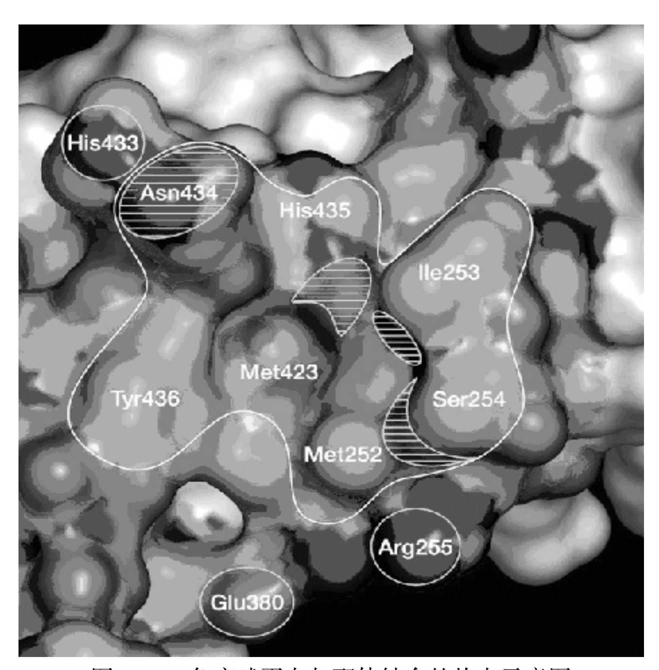


图 4-17　免疫球蛋白与配体结合的热点示意图

4.3.2.5　药物与受体分子间的共价键结合

前面述及的药物-受体相互作用，是在原子或基团之间形成较弱的结合，药物与受体未形成共价键，未发生电子的共享，因而结合往往是可逆性作用，但特异性较强。下面讨论药物与受体间发生共价结合的反应及其特点。

药物与受体的某(些)原子形成共价键，表现在共享一对或数对电子。共价键键能很高，除非被体内特异的酶催化裂解外，难以复原分开，因而这样的药物产生的作用比较持久，为不可逆过程。共价键多用于化学治疗药，使病原体的受体

靶标与药物形成共价键，发生持久性的抑制，清除病原体。

与受体发生共价键结合的药物分子中，一般含有亲电性基团或原子，与受体部位的亲核性基团或原子反应，生成共价键。正常的体内组织成分中没有亲电性基团或分子，但存在大量亲核性基团，一般而言，为了避免对正常成分的损伤，药物分子应尽量避免有亲电性基团。即使存在(如某些抗肿瘤和抗菌药物)也应有高度的选择性作用。

例如β-内酰胺类药物(青霉素和头孢菌素)的选择性抑菌作用，是因为分子内的β-内酰胺结构具有内张力，有潜在的化学活性。而且β-内酰胺的立体结构与构成细菌细胞壁的酰化的 D-丙氨酰-D-丙氨酸相似，后者是细菌转肽酶(peptidyl transferase)的底物。β-内酰胺模拟酰化的 D-丙氨酰-D-丙氨酸片段，将转肽酶酰化，抑制了细菌的生长。图 4-18 是酰化的 D-丙氨酰-D-丙氨酸与青霉素分子模型的投影图。青霉素酰化转肽酶形成共价键的机理如图 4-19 所示。

(a)　　(b)

图 4-18　酰化的 D-丙氨酰-D-丙氨酸(a)与青霉素分子模型(b)的投影图

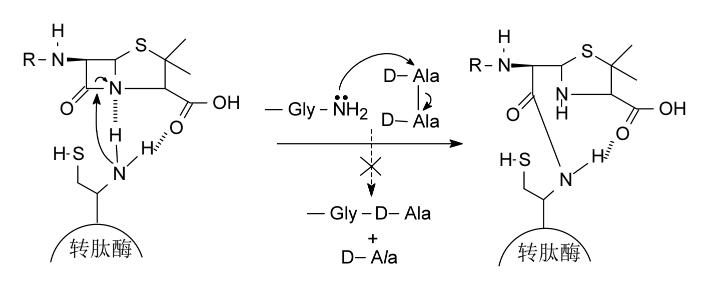


图 4-19　青霉素抑制转肽酶的示意图

表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂派力替尼(pelitinib，25)可选择性阻断 EGFR 信号转导系统，是阻止恶性肿瘤细胞增殖的抗癌药物，其作用机制是分子结构模拟并占据了 ATP 的结合位点，阻止了酪氨酸自磷酸化过程。分子中 6 位丙烯酰胺基团与酶的胱氨酸残基 Cys773 发生特异性的烷基化(迈克尔加成)，形成不可逆的共价结合，导致激酶失活。图 4-20 是派力替尼与 EGFR 蛋白结合的分子模拟图，白色虚线表示侧链的β碳原子与 Cys773 的巯基的距离[20]。

25

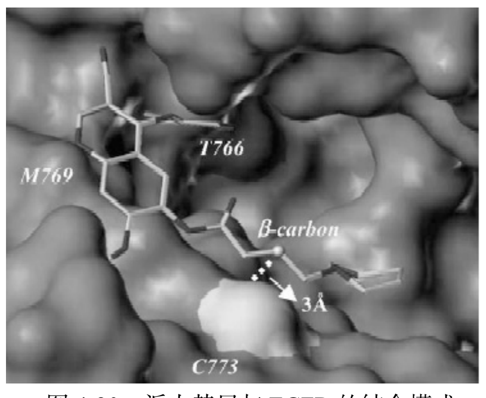


图 4-20　派力替尼与 EGFR 的结合模式

酶的自杀性抑制剂(或称催化常数抑制剂)对酶的致死性抑制是因为抑制剂与酶分子之间形成共价键。自杀性抑制剂作为假底物与酶形成复合物，在催化阶段，酶活化了抑制剂中潜在的化学基团，形成亲电性基团，就地(*in situ*)与酶活性中心的亲核基团发生烷化或酰化，生成不可逆的共价键。例如二氟甲基鸟氨酸(eflornithine，26)作为鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase，ODC)的抑制剂是因在 ODC 活性中心发生了烷基化，过程如图 4-21 所示，二氟甲基鸟氨酸临床用于治疗锥虫病。

26

图 4-21　二氟甲基鸟氨酸抑制鸟氨酸脱羧酶的机制

氮芥(nitrogen mustard)类为双功能生物烷化剂，其抗癌作用是在 DNA 的碱基或磷酸基部位发生烷化作用，形成交叉连接，导致烷化的 DNA 变形或链断裂而丧失功能，起到杀伤癌细胞作用，过程如图 4-22 所示。由于氯原子电负性和处于

β-位氮原子的亲核性，β-氯乙胺基可发生分子内亲核取代反应(S_N1)，生成乙烯亚铵离子，三元环的张力使乙烯亚铵为强亲电试剂，与 DNA 的嘌呤 N 原子发生烷基化作用，使 DNA 变形和链断裂。氮芥类药物的选择性体现在与 N 相连的片段的化学和生物化学性能，以及氮芥 N 原子的孤电子对的亲核性。

图 4-22　氮芥与 DNA 作用的机理

药物同病原体如微生物、原虫或癌细胞受体的相互作用，若生成共价键，由于不可逆性和因此所产生的持久作用及治疗效果，是一些化学治疗药物的作用基础。经共价键与受体结合的药物产生有益效果，关键是选择性问题，理想的化疗药物只与病原体受体形成共价键合，而不与宿主正常成分作用，即选择性毒性(selective toxicity)。

参 考 文 献

[1] Ferguson J. The use of chemical potentials as indices of toxicity. Proc R Soc London Ser B, 1939, 127: 387-403

[2] Clark A J. The reaction between acetyl choline and muscle cells. J Physiol, 1926, 61: 530-546

[3] Gaddum J H. The action of adrenalin and ergotamine on the uterus of the rabbit. J Physiol, 1926,

61: 141-150
[4] Ariens E J. Affinity and intrinsic activity in the theory of competitive inhibition. I. Problems and theory. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1953, 99: 32-49
[5] Paton W D. A theory of drug action based on rate of drug-receptor combination. Proc. R. Soc. London Ser. B, 1961, 154: 21-69
[6] Koshland D E Jr. Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. Proc, Natl Acad Sci USA, 1958, 44: 98-104
[7] Fesik S W, Gampe R T Jr, Eaton H L, et al. NMR studies of [U-13C]cyclosporine A bound to cyclophilin: bound conformation and portions of cyclosporine involved in binding. Biochemistry, 1991, 30: 6574-6583
[8] Belleau B. A molecular theory of drug action based on induced conformational perturbation of receptors. J Med Chem, 1964, 7:776-784
[9] Powers J C, Harper J W// Barrett A J, Salveson G. Proteinase Inhibitors. New York: Elsevier, 1986, 244
[10] Ma J C, Dougherty D A. The cation-π interaction. Chem Rev, 1997, 97:1303-1324
[11] Schaerer K, Morgenthaler M, Paulini R, et al. Quantification of cation-pi interactions in protein-ligand complexes: crystal-structure analysisof factor Xa bound to a quaternary ammonium ligand. Angew Chem Int End Eng, 2005, 44: 4400-4404
[12] Page M I. Entropy, binding energy, and enzymic catalyst. Angew Chem Int Ed Eng, 1977, 16: 449-459
[13] Cowan S W, Nercomer M E, Jones T A. Crystallographic refinement of human serum retinol binding protein at 2Å resolution. Proteins, 1990, 8: 44-61
[14] Hunter C A, Siegh J, Thorton J M. π-π Interactions: the geometry and energetics of phenylalanine-phenylalanine interactions in proteins. J Mol Biol, 1991, 218: 837-846
[15] Newcomb L F, Gellman S H. Aromatic stacking interactions in aqueous solution: Evidence that the neither classical hydrophobic effects nor dispersion forces are important. J Am Chem Soc, 1994, 116: 4993-4994
[16] Wenger R M, France J, Bovermann J, et al. The 3D structure of a cyclosporin analog in water is nearly identical to the cyclophilin-bound cyclosporin conformation. FEBS Lett, 1994, 340: 255-259
[17] van der Velde D G, Georg G I, Grunewald G, et al. “Hydrophobic collapse” of Taxol and Taxotere solution conformations in mixtures of water and organic solvent. J Am Chem Soc, 1993, 115: 11650-11651
[18] Fisher M J, Gunn B, Harms S, et al. Non-Peptide RGD surrogates which mimic a Gly-Asp β-turn: potent antagonists of platelet glycoprotein IIb-IIIa. J Med Chem., 1997, 40: 2085-2101
[19] Arkin M R, Wells J A. Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. Nature Rev Drug Discov, 2004, 3: 301-317
[20] Akula N, Bhalla J, Sridhar J, et al. Binding modes of 6,7 di-substituted 4-anilinoquinoline-3-carbonitriles to EGFR. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14: 3397-3400

第 5 章　药物的化学结构与生物活性的关系

5.1　定义和范围

药物的化学结构与生物活性(包括药理和毒理作用)间的关系(简称构效关系，structure-activity relationships，SAR)是药物研究中的一个广泛课题，是药物化学的核心议题之一，也是分子药理学的重要内容。药物同机体的作用部位发生相互作用，引发生物活性，是药物分子与受体大分子的物理化学性质以及化学结构之间相互适配和作用的结果。药物分子结构的改变，会引起活性强度发生变化(即量变)，也可能改变活性的类型，即质的变化。构效关系反映药物作用的规律和特异性。

研究和阐明药物的构效关系，有助于解析和认识药物的作用机制(mechanism of action)和作用方式(mode of action)。药物产生药效或毒副作用，是分子的一系列复杂过程的综合和宏观的表现。这种作用可以认为是药物(小)分子与体内的生物(大)分子之间相互作用而引发的，本质上是某种化学反应或者是物理化学的平衡过程。例如抗肿瘤药物紫杉醇的作用，是与癌细胞分裂相关的微管蛋白发生特异性结合，阻止了细胞分裂，产生抗癌效果；吗啡的镇痛作用是与中枢的阿片受体发生疏水键合、静电引力以及范德华作用等物理化学过程产生的。

在研究这些相互作用时，通常我们对药物分子这一方了解得比较清楚，例如化学结构、构型构象、原子和基团在空间的分布以及电荷分布状态等信息，可以通过实验的方法或计算手段获取；但对于生物大分子，即通常称之为受体分子或受体作用部位，因其结构的复杂性，对它们的组成、形状和空间结构以及与药物分子结合的三维结构特征了解较少。虽然现今用结构生物学(structural biology)能够研究某些受体的结构和与药物作用的特征，但仍有许多受体与药物的作用缺乏直接解析的手段，难以阐明作用原理。

药物作用的特异性是基于药物分子与受体分子的作用部位在结构上的互补性，体现在双方分子的形状、原子或基团的物理化学性质以及三维空间的相互适配性，从而相互结合产生效应的。这个论断已由许多酶抑制剂与靶酶结合的晶体结构得到了证实。然而并非所有的受体的三维结构是清楚的。当对受体的化学本质了解不多时，用药物化学和构效分析的方法，可以间接地解析和阐明。研究构效关系的前提，是各化合物与同一受体和同一作用部位相结合，换言之，要求受

试化合物的作用机制和作用方式是一致的，这样，在小分子的结构变换引起的活性的改变中，把握受体对药物分子结构的要求，推断受体的结构环境。为此通常是设计并合成结构类似的化合物，评价其生物活性，根据分子结构和物理化学性质的改变所引起活性强度变化的规律，即构效关系，可推测与药物分子呈互补和适配性的受体有什么样的结构、理化环境和立体形象。

用计算化学的方法如分子力学(molecular mechanics)、分子动力学(molecular dynamics)和量子化学(quantum chemistry)可表征药物小分子的立体性和静电分布，通过与活性的关联，揭示其中的内在关系。应当指出，研究和分析构效关系不是理论问题，而是以实验为基础的经验性总结。研究构效关系可以在定性的层面上，也可研究定量的构效关系。本章讨论构效关系的定性方面，下章讨论定量构效关系。

5.2 药 效 团

5.2.1 药效团的一般概念

在讨论构效关系之前，建立药效团的概念对于理解原子、基团、构型和构象的变化对活性的影响是有帮助的。

药效团(pharmacophore)概念最早由 Ehrlich 提出，认为药物的药理或毒性作用归因于某些特定的化学活性基团，或称作毒性基团的存在，用以解释药物的作用并尝试分析构效关系。药物与受体分子的结合不是全部原子和基团的相互作用，而是受体结合部位特定的数个位点与药物分子的特定原子或基团的结合，这可以解释为什么不同的化合物可以与同一受体发生竞争性结合。所谓药效团是与特定的生物靶标产生适宜的相互作用，从而引发或阻断生物效应所必需的立体和电性特征的集合，换言之，药效团是产生特定药理作用所必需的物理化学特征及其在空间的分布。药效团是一个抽象的概念，不是具体的分子，而是一组离散的物理化学特征，分布在空间的特定位置。对于与特定靶标结合的药效团，特征之间的距离大致固定在一定的范围。作用于不同靶标的药效团是不同的，有不同的物化特征，距离也不相同。

5.2.2 药效团的物化特征

表述药效团特征的最直观的形式是具体原子或功能基团，如烷烃、卤素、氮、氧、硫原子，羟基、羰基，以及芳环等，都可构成药效团成分，这些原子、基团或片段，在空间的相互位置反映了与受体结合的结构单元。

通常将药效团特征(feature)分为 6 种：氢键给体，氢键接受体，正电荷中心，

负电荷中心，疏水中心和芳环质心，这 6 种特征基本上反映了药物与受体结合的本质。然而，并非每个药效团都含有这 6 种。常见的药效团含有 3 或 4 个特征，含有 3 个特征的药效团特征之间有 3 个距离，有 4 个特征的药效团空间距离有 6 个。此外，氢键和芳环平面具有方向性。

药效团的表示方法有多种：最简单的方式是用点及其连线，标示出特征及其空间距离，如图 5-1 所示的(a)为阿片受体激动剂的药效团，含有 3 个特征；(b)为表皮细胞生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂的药效团，含有 4 个特征。

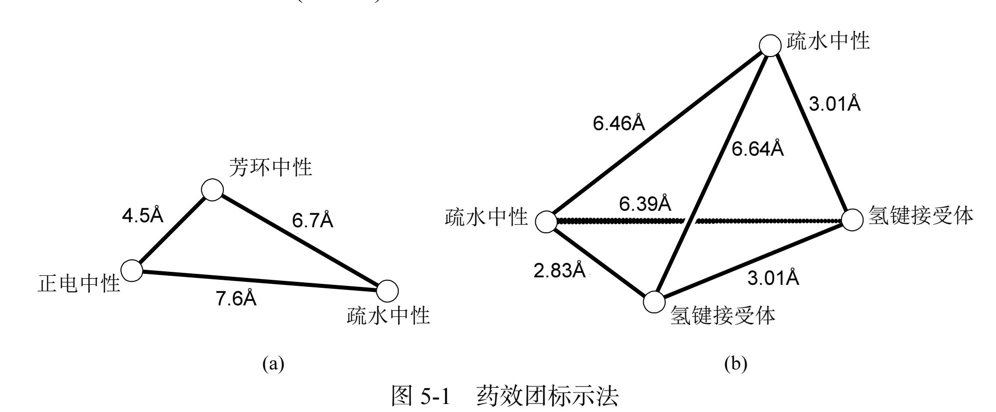


图 5-1　药效团标示法

(a)为有 3 个特征的阿片受体激动剂的药效团；(b)为有 4 个特征的 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂的药效团

5.2.3　药效团的生成

药效团是从一组活性化合物中总结提炼出来的，构建药效团的步骤如下：

(1) 准备活性化合物，一般至少 10 个，化合物的结构最好具有多样性，而且活性之间有较大的差别，这样得到的药效团模型的预测能力较强；

(2) 化合物中最好有刚性或半刚性的高活性化合物，以作为柔性分子的模板化合物。如果有柔性化合物的晶体结构，也可以作为模板；

(3) 如果没有晶体结构，则用适当的软件构建具有标准键长、键角和两面角的分子结构，经分子力学优化后，再经分子动力学处理和能量优化，并至少重复 20 次，得到多个低能的构象群；

(4) 通过结构叠合，搜寻系列化合物中共有的构象，共有的药效团特征应存在于叠合的结构中。被确定的药效团特征，应基于构效关系的数据。

(5) 药效团模型的生成。常用 CATALYS、UNITY、LigandScout、DISCO 或 GRID 等程序。

(6) 用已知活性的化合物对模型进行检验。

5.2.4　药效团和优势结构

药效团是对已有活性分子结构本质的解析，是对现实药物或活性化合物的抽象和深化认识，也是对受体结合特征的映射。药效团是不连续的散在性的基团或片段，只有“附着”或连接在化学骨架上，才能体现其药理活性。分子骨架犹如药效团的“赋形剂”，使决定活性的功能基团体现于实际的分子结构中。骨架具有连续的结构特征，这与离散断续的药效团相反。没有适宜的骨架支撑，药效团得不到准确的体现，形不成具体的分子，因而无法呈现药理活性；没有药效团的化学骨架，不会产生药理作用，不能称其为药物。所以，药效团与骨架是相互依赖而存在的，二者缺一不可，共存于药物分子中。这样，药物可认为是由适宜的骨架连接并支撑着必需的药效团所组成，新药的创制，是在发现活性分子基础上的骨架变换。

在药物化学结构中，某些特定的结构片段或骨架反复出现在作用于多种受体的配体结构中。Evans 等将这类结构片段定义为“优势结构”(privileged structure)[1]，优势结构与药效团的恰当配置，是创制新药特别是研制模拟创新药物(follow-on drug)的策略基础[2]。常见的优势结构有甾体骨架(1)、苯并氮䓬(2)、苯基二氢吡啶(3)、联苯基(4)、二苯甲基(5)、苯并螺环(6)等。

1　　2　　3

4　　5　　6

5.2.5　药效团与分子设计

药效团的主要用途是设计新的药物分子，将药效团模型的特征和空间分布作为一个尺度，可用药物化学方法设计新骨架化合物，也可进行化合物库的虚拟搜寻，发现新的苗头化合物(hit)或先导化合物(lead)。用计算机对化合物库进行比对，

要优化化合物的构象，凡符合该药效团特征的化合物可被挑选出来，经合成或商业购买，进行活性评价，以发现具有新结构类型的活性化合物。为了确保被挑选出的化合物具有类药性，要使药效团模型有类药性，所以，设定药效团的标准非常重要，通常设定如下的标准[3]：

(1) 至少有 3 个特征，只有 2 个特征的药效团不具有类药性；

(2) 没有环的药效团不具有类药性；

(3) 多于 6 个特征的药效团无类药性；

(4) 多于 2 个羧基的药效团无类药性；

(5) 就化学基团而言，常见的药效团特征包括胺基、酰胺基、羟基、酮基、砜基、磺酰胺基、羧基、胺甲酰基、脒基、胍基、脲基和酯基等；

(6) 含氮杂环如吡咯、吲哚、噻唑等视作一个特征。

5.2.6 药效团举例

由于构建药效团包含有多步骤的程序操作，本书限于篇幅不能作详细讨论，下面列举的实例是构建的药效团的结果，使读者了解药效团的表示方式。图 5-2 为 HIV-1 整合酶抑制剂β-二酮酸的药效团模型，是用 CATALYST HipHop 模块构建的，药效团上的分子称作模板分子，其结构如 7 所示。模板分子是最有代表性的活性化合物，不仅表示了化合物呈现活性时的分子形状和构象，而且也提示了药效团所对应的结构位置。该药效团模型包括 4 个特征，分别为疏水的芳香环，一个氢键接受体，两个氢键给体。用双球内部的箭头表示氢键形成的方向[4]。

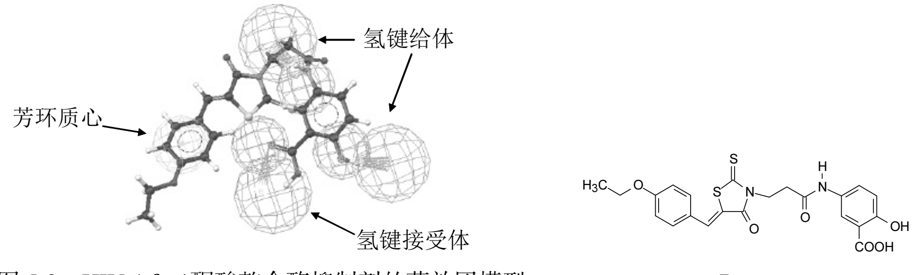
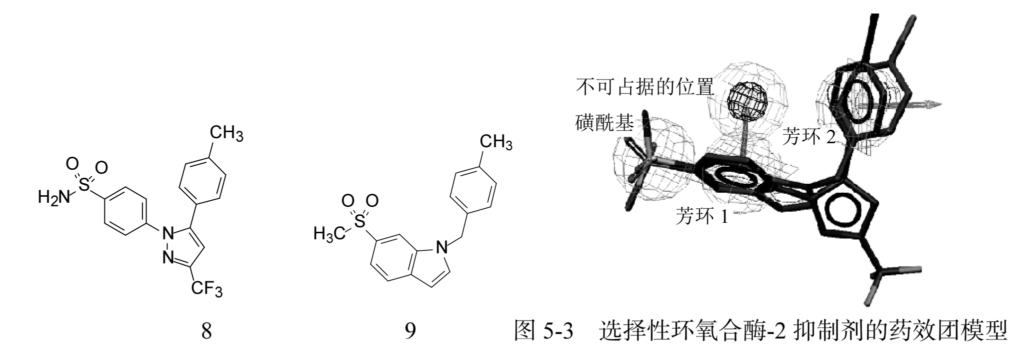


图 5-2 HIV-1β-二酮酸整合酶抑制剂的药效团模型　　7

图 5-3 为选择性环氧合酶-2 抑制剂的药效团模型，是用 CATALYST 程序构建的，模型分子为塞来昔布(celecoxib，8)，为晶体结构。化合物 9 是另一与塞来昔布叠合的抑制剂。图中左侧球为磺酰基的药效团特征，两个芳环的两面角为(290°±10°)，在一个芳环的上方有一个不可占据的空间，用双层球标识，这个区域是选择性抑制剂所必须空出的位置[5]。



8　　　9　　　图 5-3　选择性环氧合酶-2 抑制剂的药效团模型

图 5-4 是二氢叶酸还原酶抑制剂的药效团，(a)为由训练集构建的药效团，模板分子为高活性化合物 10；(b)为按照该药效团对试验集化合物(11)的预测，可以看出拟合良好。该模型含有 4 个特征：两个氢键接受体，一个正电荷特征和一个芳环特征[6]。

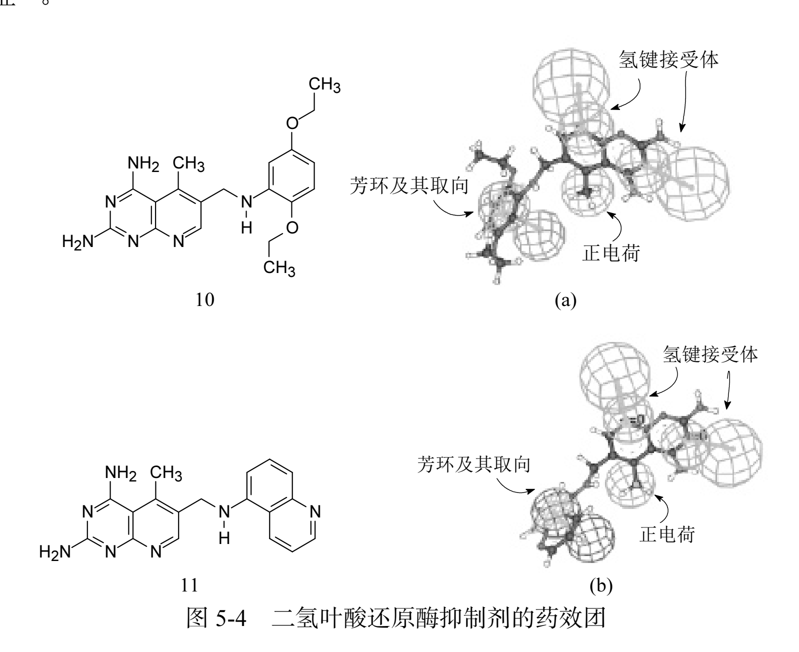


图 5-4　二氢叶酸还原酶抑制剂的药效团

下面列举一些重要药物的药效团和有代表性的药物。为了增加直观性和突出药效团特征，所列出的药效团是以连接的方式表示的，省去了特征之间的距离。

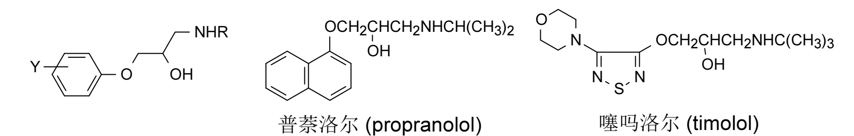
1. 拟胆碱能药物

卡巴胆碱 (carbachol)　氯贝胆碱 (bethanechol chloride)

2. 拟肾上腺能药物

异丙肾上腺素 (isoprenaline)　　新胡椒喘定

3. β-肾上腺能拮抗剂



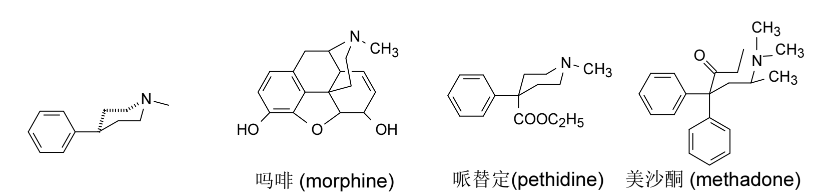
普萘洛尔 (propranolol)　　噻吗洛尔 (timolol)

4. 局部麻醉药

$n = 2, 3$

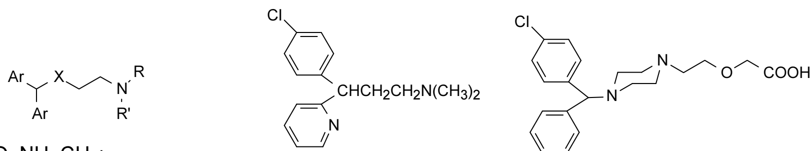
普鲁卡因 (procaine)　　海克卡因 (hexylcaine)

5. 阿片类镇痛药



吗啡 (morphine)　　哌替定(pethidine)　　美沙酮 (methadone)

6. H_1 受体阻断剂的抗组胺药



X = O, NH, CH_2;
Ar = 相同或不同的芳环, 芳杂环

氯苯那敏 (chlorphenamine)　　西替利嗪 (cetirizine)

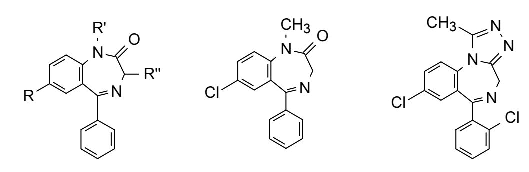
7. 芳烷酸类抗炎药

吲哚美辛 (indomethacin)　　萘普生 (naproxen)

8. 苯丁酮类安定药

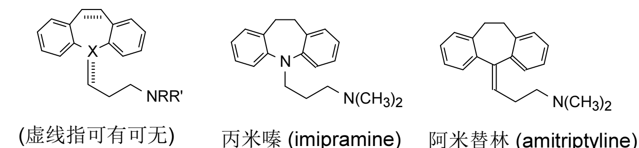
氟哌啶醇 (haloperidol)　　螺哌隆 (spiperone)

9. 苯二氮䓬类安定药



地西泮 (diazepam)　三唑仑 (triazolam)

10. 三环类抗抑郁药



(虚线指可有可无)　丙米嗪 (imipramine)　阿米替林 (amitriptyline)

11. 磺胺类抗菌药

磺胺二甲嘧啶 (sulfamethazine)　磺胺甲噁唑 (sulfamethoxazole)

12. 磺胺类利尿药

氢氯噻嗪 (hydrochlorothiazide)　美托拉宗 (metolazone)

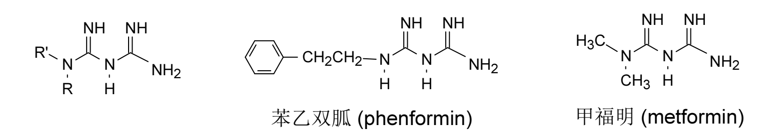
13. 磺酰脲类降血糖药

甲磺丁脲 (tolbutamide)　格列齐特 (gliclazide)

14. 砜类抗麻风病药

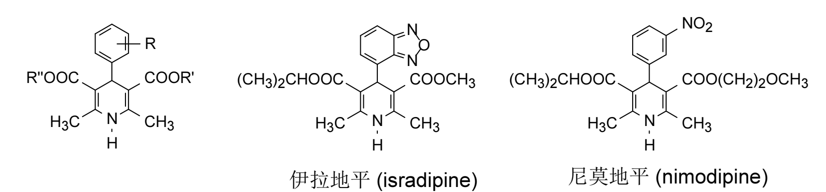
葡氨苯砜 (glucosulfone)　阿地砜钠 (aldesulfone sodium)

15. 双胍类降血糖药



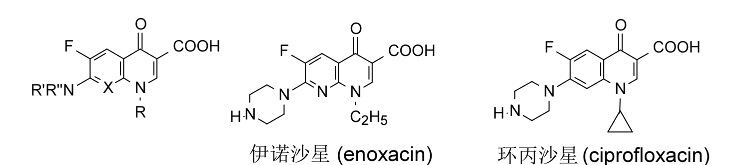
苯乙双胍 (phenformin)　甲福明 (metformin)

16. H_2 受体阻断剂(抗消化道溃疡药)



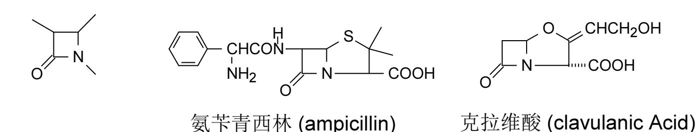
西咪替丁 (cimetidine)　雷尼替丁 (ranitidine)

17. 二氢吡啶类钙拮抗剂



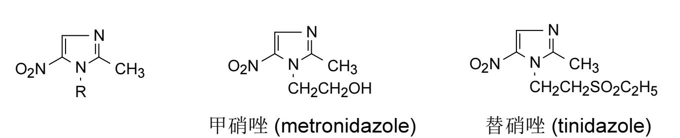
伊拉地平 (isradipine)　尼莫地平 (nimodipine)

18. 喹酮酸类抗菌药



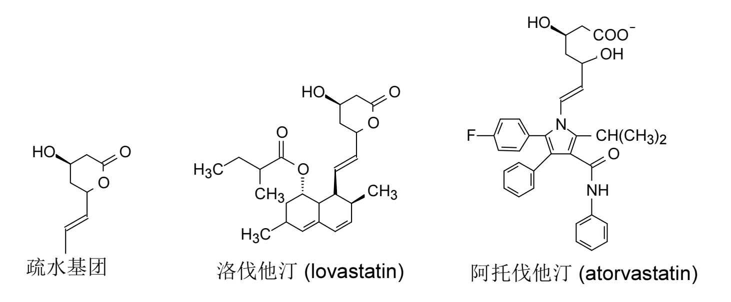
伊诺沙星 (enoxacin)　环丙沙星 (ciprofloxacin)

19. β-内酰胺类抗生素



氨苄青西林 (ampicillin)　克拉维酸 (clavulanic Acid)

20. 硝基吡唑类抗原虫药

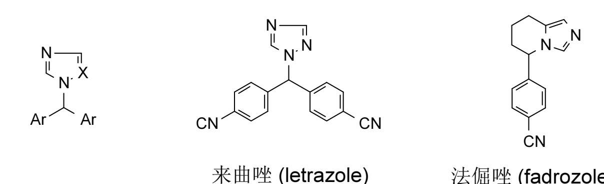


甲硝唑 (metronidazole)　替硝唑 (tinidazole)

21. HMG-辅酶 A 还原酶抑制剂(降胆固醇药)

疏水基团　洛伐他汀 (lovastatin)　阿托伐他汀 (atorvastatin)

22. 芳构酶抑制剂(抗癌药)



来曲唑 (letrazole)　　法倔唑 (fadrozole)

23. $5HT_3$ 受体拮抗剂(止吐药)

昂丹司琼 (ondansetron)　　格拉司琼 (granisetron)

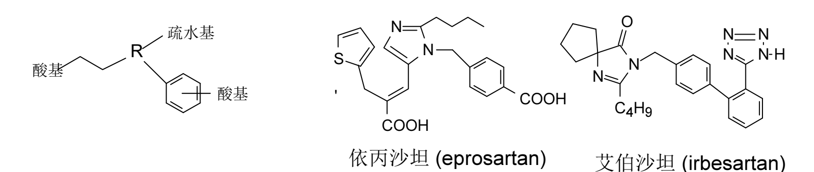
24. 血管紧张素 II 转化酶抑制剂(降压药)

卡托普利 (captopril)　　依那普利 (enalapril)

25. $5HT_{1d}$ 受体拮抗剂(偏头痛治疗药)

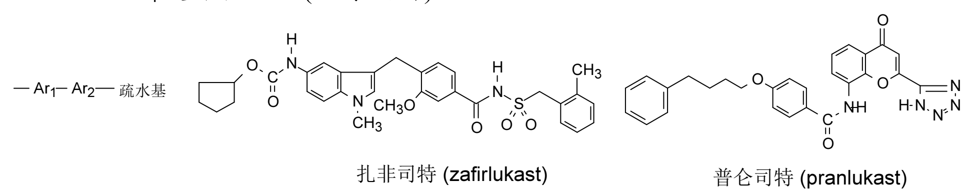
舒马普坦 (sumatriptan)　　左米普坦 (zolmitriptan)

26. 血管紧张素 II 受体拮抗剂(降压药)



依丙沙坦 (eprosartan)　　艾伯沙坦 (irbesartan)

27. LTD_4 受体拮抗剂(抗哮喘药)

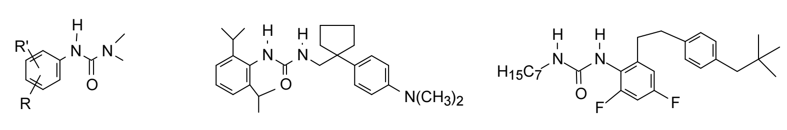


扎非司特 (zafirlukast)　　普仑司特 (pranlukast)

28. β_3 受体激动剂(降血糖，抗肥胖药物)

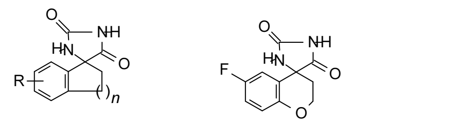
西布曲明 (sibutramine)　　AJ-9677

29. 酰基辅酶 A：胆固醇-酰基转移酶抑制剂(治疗脂蛋白紊乱)



PD-132301-2　　　　447C88

30. 醛糖还原酶抑制剂(降血糖药)



索比尼尔 (sorbinil)　　咪瑞司他 (imirestat)

31. 缩胆囊素(CCK)受体拮抗剂(治疗大肠激惹性症候群)

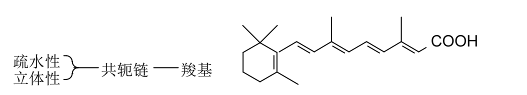
疏水基

氯戊米特 (lorglumide)　　螺戊米特 (spiroglumide)

32. 过氧化酶体增殖激活受体γ(PPAR$_\gamma$)激动剂(抗 II 型糖尿病药物)

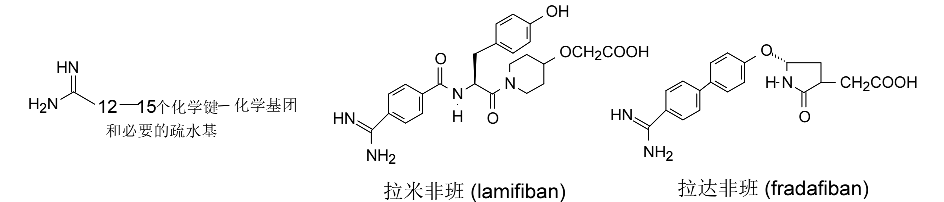
罗格列酮(rosiglitazone)　　Reglitazar (JTT-501)

33. 维甲受体(RAR)激动剂(抗癌，抗牛皮癣)



维甲酸 (retinoic Acid)　　他各瑞亭 (targretin)

34. IIb/IIIA 糖蛋白受体拮抗剂(抗血小板聚集，抗血栓药)

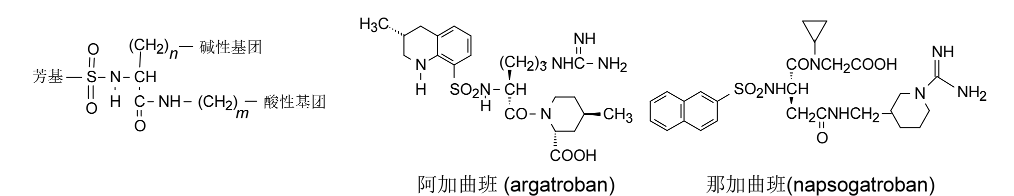


拉米非班 (lamifiban)　　拉达非班 (fradafiban)

35. 5-脂氧酶(5-LO)抑制剂(抗炎，抗过敏药)

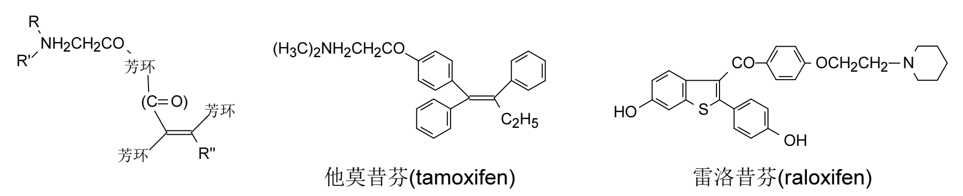
齐留通 (zileuton)　　CMI-392

36. 血栓素抑制剂



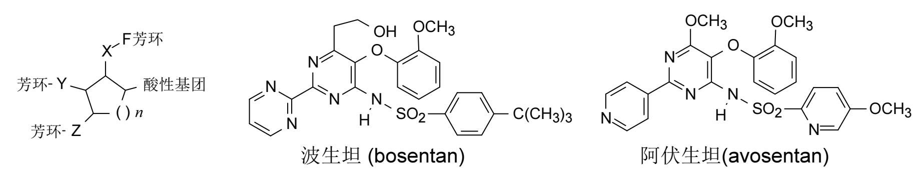
阿加曲班 (argatroban)　　那加曲班(napsogatroban)

37. 雌激素受体调节剂(抗癌, 抗骨质疏松药)



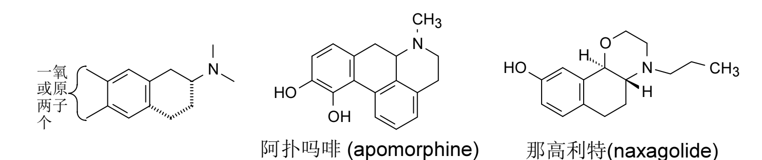
他莫昔芬(tamoxifen)　　雷洛昔芬(raloxifen)

38. 内皮素受体拮抗剂(降压药)



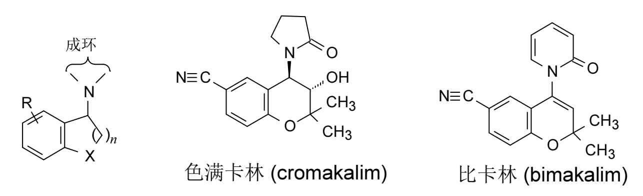
波生坦 (bosentan)　　阿伏生坦(avosentan)

39. 多巴胺受体激动剂



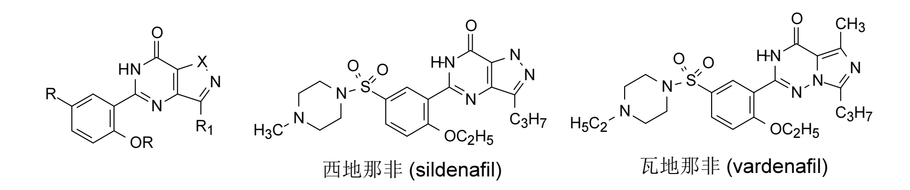
阿扑吗啡 (apomorphine)　　那高利特(naxagolide)

40. 钾通道激活剂(降血压药)



色满卡林 (cromakalim)　　比卡林 (bimakalim)

41. 磷酸二酯酶 V 抑制剂(心血管药物, 男性勃起药)



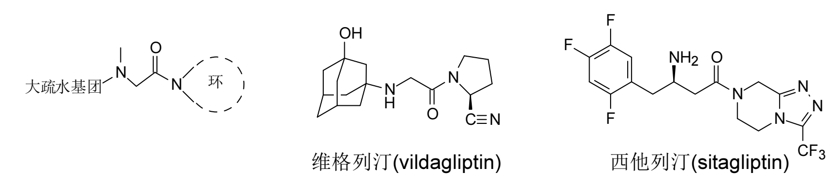
西地那非 (sildenafil)　　瓦地那非 (vardenafil)

42. 磷酸二酯酶 VI 抑制剂(慢性阻塞性肺病，抗哮喘药)

大疏水基团　含极性基团的大体积片段　小疏水基团

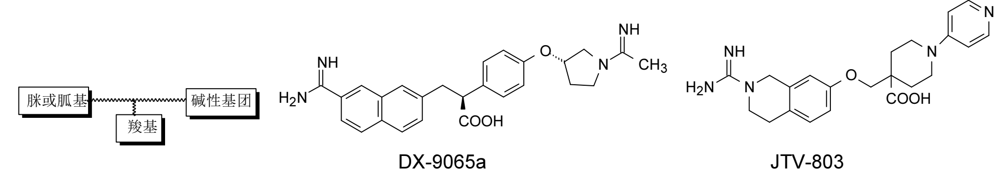
罗氟司特(roflumilast)　咯利普兰(rolipram)

43. 二肽肽酶 IV(DPP-IV)抑制剂(抗 II 型糖尿病药物)



维格列汀(vildagliptin)　西他列汀(sitagliptin)

44. Xa 因子抑制剂(抗血栓药)



DX-9065a　JTV-803

45. 表皮细胞生长因子受体激酶(EGFR kinase)抑制剂(抗癌，抗白血病药)

大疏水片段　引出氢键给体　氢键接受体

吉非替尼(gefitinib)　厄洛替尼(erlotinib)

5.3　毒 性 基 团

研究构效关系，从广义上讲包括结构与活性强度、结构与选择性、结构与药代、结构与物化性质，以及结构与毒性和不良反应之间的关系。

5.3.1　亲电性基团

新药研究要尽早避免含有或潜含的毒性基团的化合物，一些化疗药物如抗肿瘤药物含有亲电性基团，对癌细胞的 DNA 或关键酶发生亲核取代反应，形成共价键结合，因而抑制肿瘤的生长。抗肿瘤药物的亲电性基团有β-卤代乙胺，磺酰酯，环氧乙烷基，乙烯亚胺基以及α，β-不饱和酮或酯等，其实这些都是具有化学反应性的亲电性基团，只是所处的分子结构环境对肿瘤靶标具有一定程度的特异性或选择性罢了。但对于药效药物则不能有这样的基团，因为若与人体正常的酶、

核酸或蛋白发生共价键结合，会导致持久性的损伤，这是应绝对避免的。表 5-1 列出了化疗药物中出现的亲电性基团或片段。

表 5-1　直接出现毒性的亲电性基团或片段

基团类型	结构	反应类型
氮芥	N, Cl	亲核取代反应
甲烷磺酸酯	O O S H_3C O R	亲核取代反应
环氧乙烷	O	亲核取代反应
乙烯亚胺	N	亲核取代反应
α,*β*-不饱和酮	R O	迈克尔加成反应
α,*β*-不饱和内酯	OR O	迈克尔加成反应
杂环化合物 (X=CH 或 N)	N X 离去基团	亲核取代反应
脂肪族卤化物	R—X	亲核取代反应
杂环化合物 (X=CH 或 N)	N X 离去基团	亲核取代反应

5.3.2　经代谢诱导生成的毒性基团

药物中某些基团本身不是亲电试剂，但在体内可被细胞色素 P450 代谢活化，生成毒性基团，导致临床呈现毒副作用。如果生成的基团反应活性很强，会直接在 CYP 活性部位发生亲核取代反应，成为 CYP 失活剂[7]。表 5-2 列举了一些常见的经代谢活化的毒性基团。

表 5-2　经代谢活化的一些毒性基团

基团类型	结构	代谢产物	致毒反应类型
儿茶酚	HO HO	O O	迈克尔加成反应

续表

基团类型	结构	代谢产物	致毒反应类型
邻甲苯酚			迈克尔加成反应
对苯二酚			迈克尔加成反应
对甲苯酚			迈克尔加成反应
亚甲二氧基苯			自由基反应
苯胺类	R_1,R_2 = 烷基，酰基，酰氧基，苯基		加成反应
氨基噻唑			加成反应
噻吩		N-乙酰半胱氨酸	加成反应
呋喃			亲核取代反应
甲基吲哚			迈克尔加成反应
肼类		生成R_1, R_2自由基	自由基反应
炔类			亲核取代反应

生成的活性代谢产物可能引起染色体突变、肝毒性或心脏毒性等。如果产生的亲电基团或自由基可被体内亲核性物质结合，可显著减弱毒副作用。例如抗过

敏和哮喘药物白三烯 D_4 受体拮抗剂扎鲁司特(zafirlukast，12)的 3-苄基吲哚被 CYP 氧化而活化成迈克尔试剂，继之与谷胱甘肽生成轭合物(13)[8]。

1. CYP氧化
2. GSH轭合

12　　13

药物的致畸作用是药物或其代谢产物穿越母体的血液-胎盘屏障影响胚胎的正常发育或分化，造成胎儿畸形的毒性反应。虽然尚不清楚化学结构与致畸作用之间的关系，但已知具有诱导细胞分化的药物有引起胎儿畸形发育的潜在危险。实验表明，用于治疗早幼粒白血病和牛皮癣的维甲类药物如全反式维甲酸(retinoic acid，14)可引起胎鼠的畸形发育，所以孕妇不得使用维甲类药物。沙利度胺(thalidomide，15)曾因作为镇静药用于孕妇却产生了严重的致畸作用而轰动了 20 世纪 60 年代的西方世界，已绝对禁止使用。后来研究证明，沙利度胺的 *S*-(-)-对映体有强致畸作用，而 *R*-(+)-异构体即使剂量达 400 mg/kg，对小鼠也无致畸作用。

14　　15

药物对心脏的毒性，有时也并非存在某个毒性基团，而是分子结构本身对调节心脏功能的靶标有抑制作用，影响了心脏的功能。药物对 *h*ERG 受体的抑制引起心脏毒性已受到广泛重视。*h*ERG 是人 ether-a-go-go 相关基因的缩写，携带有钾离子通道亚基编码，主要影响人心脏的复极化作用，抑制 *h*ERG 可引起心律失常，心电图的 Q-T 波延长，导致心脏猝死。作用 H_1 受体的拮抗剂阿司咪唑(astermizole，16)，临床治疗过敏性鼻炎，上市后发现抑制 *h*ERG 钾离子通道，于 1999 年停止使用[9]。用高表达 *h*ERG 受体的细胞对化合物进行早期试验评价，可以判断对心脏是否有潜在毒性[10]。

16

5.4　基团的变化对活性的影响

在药效团概念的指导下，讨论基团的变化对活性的影响就比较容易了。变换基团总的原则是，如果改变的是药效团的特征，则直接影响了与受体的结合，当特征发生有利的变化，活性增高，反之则活性降低。若基团的改变不影响药效团的作用，而可能改变化合物的物理性质如溶解性、分配性或离解性等，并由此改变化合物的药代动力学性质，如吸收性、分布性、代谢稳定性和半衰期等，间接地影响体内活性。下面讨论的内容，是基团对活性的直接或间接的影响。

5.4.1　碱性和酸性基团

碱性和酸性基团常常参与同受体的结合，既可能在体内质子化或离解成带正或负电荷，与受体的相反电荷发生静电作用，也可作为氢键的给体或接受体形成氢键，因而往往是呈现药理作用时必需基团。酸性和碱性基团又是极性基团，对药物的物理化学性质影响较大，因而对生物活性也有间接的影响。

磺酸基—SO_3H、磷酸基—PO_3H_2 和羧基—COOH 等酸性基团是加溶基(solubilizing group)，成盐后增大药物的溶解度。磺酸基和磷酸基是强电离性基团，这些基团的存在使药物不易穿越细胞膜，降低或丧失活性。然而某些杀虫药如苏拉明(suramin，17)和锑芬(stibophen，18)分子中含有多个磺酸钠基，仍有活性。苏拉明还对前列腺癌有治疗作用。牛磺酸(taurine，19)和亚牛磺酸(hypotaurine，20)也可以吸收，是通过主动转运摄入的。

17　　18

$H_2N—CH_2—CH_2—SO_3H$

19

$H_2N—CH_2—CH_2—SO_2H$

20

引入磷酸基可增加溶解度和改善药代性质，例如抗肿瘤药物 combretastatin A-4 (21)溶解性低，经磷酸酯化后得到 combretastatin A-1 phosphate (22)溶解性提高，后者是前药[11]，注射进入体内后经水解生成 21。

21　　22

分子中引入羧基对活性的影响，取决于原来分子的大小，或者说羧基在分子中占有的比重。如果原分子较小，则羧基的引入会改变生物活性，往往使原活性降低或消失，也降低毒性，有时也可能出现新的药理作用。例如苯酚为防腐剂，有强毒性，而水杨酸为抗炎药，毒性较小。一些药物中的羧基是药效团特征，例如芳乙酸类非甾体抗炎药，前列腺素和色甘酸钠的羧基也是必需的。

白三烯 D4(LTD4)受体拮抗剂抗过敏药物扎鲁司特(zafirlukast，23)分子中氨基同时与磺酰基和酰基连接，氮上氢原子呈明显酸性，该酸性基团模拟了 LTD4 中的羧基，以满足受体对负电荷的要求。

23

羧酸的衍生物如酯、酰胺或腈与羧基有很大的差别，如果分子中引入羧基而降低或失去活性，则衍生为上述基团常常可恢复活性。对氨基苯甲酸是微生物生长所必需的营养物，而其烷基酯则有局部麻醉作用。羧酸酯容易水解，是设计可逆性前药的重要基团。

酰胺基与酯基不同，化学与代谢稳定性强于酯基，而且酰胺基既是氢键的给体(若氮上保留有氢原子)也是氢键的接受体，因而增加了与靶标分子结合的机会。而且三价氮原子也使酰胺基成为连接基，连接新的片段，这与酯基也不同。

药物分子中的碱性基团包括有胺、脒、胍和含氮杂环等。引入碱性基团可增加分子的极性和成盐性，在一定范围内产生增溶效应，改善物理和药代性质。抗肿瘤药物拓扑替康(topotecan，24)、伊立替康(irinotecan，25)和拉帕替尼(lapatinib，26)的碱性侧链的作用是改善物化和药代性质。

24　　25　　26

当药物的 pK_a 大于 10，由于在体内被质子化难以经被动扩散进入中枢神经系统。引入胺基往往增加生物活性，伯胺类的活性和特异性低于仲胺和叔胺，脂肪族二胺或多胺的生物活性较强，胺基被酰化会降低或丧失活性。芳香胺的活性和毒性强于脂肪胺，这是因为在体内发生广泛的代谢作用所致。但芳胺的环上引入羧基会显著降低毒性，例如苯胺与对氨基苯甲酸的毒性差别很大。季铵基团具有持久性正电荷，在吸收性和药理活性上与伯、仲、叔胺有较大的区别。

5.4.2　酰基

酰胺或酯中的酰基的生物活性，也可能是由于参与了机体或病原体的酰化反应。例如有机磷杀虫剂抑制乙酰胆碱酯酶的作用，是由于对酶的活性中心丝氨酸残基的羟基发生磷酰化反应，这种磷酰化是不可逆的，其过程如图 5-5 所示。图中乙酰胆碱作为正常底物被胆碱酯酶活性中心的丝氨酸羟基作亲核进攻，生成胆碱和乙酰化的胆碱酯酶，后者经水解去乙酰化，胆碱酯酶复原，完成催化使命，催化下一个分子的水解(途径 A)；当存在杀虫剂异氟磷时，丝氨酸残基进攻磷酰基，生成磷酰化的胆碱酯酶，后者不能水解复原而失活(途径 B)。

图 5-5　胆碱酯酶催化水解乙酰胆碱的可逆过程(A)和杀虫剂异氟磷对胆碱酯酶的失活过程(B)

水杨酸经乙酰化生成阿司匹林，后者对环氧合酶的抑制是对酶活性中心发生乙酰基反应，所以阿司匹林是不可逆抑制剂。青霉素或头孢菌素类抗生素的β-内酰胺环由于存在的张力具有酰化性质，抑制了细菌细胞壁生物合成的转肽反应，反应历程详见第 4 章。

5.4.3　烷基

烷基的变换可以影响多种物化性质，如溶解度，分配系数，离解性，氧化-还原电位和代谢的反应性等。烷基的大小和支化程度影响体积和构象的变化，因此也影响与受体的作用。

在烷基当中，甲基的地位比较特殊。活性分子中引入一个或多个甲基可产生多种效应，首先，加入甲基可使脂溶性增加，例如苯的分配系数(正辛醇/水)$P = 135$，甲苯 $P = 490$；乙酰胺 $P = 83$，丙酰胺 $P = 360$。加入甲基 $\log P$ 值一般增加 0.56；但引入甲基也会使疏水性降低，反而增加了水溶性。在支链上引入甲基或直链变成叉链，由于熵效应使分子紧缩成“球形”，有利于在水中溶解。例如在 20℃时 100 mL 水可溶解正戊醇 2.4 g，2-甲基丁醇 4.9 g，2,2-二甲基丙醇 12.2 g，后者的水溶性甚至高于正丁醇(8.2 g)。这种能量上趋于优势的分子折叠，导致水溶解度的增加。这个现象也见于芳烷胺分子中。在水中氮原子带部分正电荷，与苯环的π-正电荷相互作用所产生的分子折叠，使水溶性比预料值为高[12]；甲基可降低晶格能。甲基的存在可阻碍分子间氢键和偶极-偶极相互作用，减少了分子间的缔合。例如磺胺嘧啶(sulfadiazine)的嘧啶环上引入一个甲基称为磺胺甲嘧啶(sulfamerazine)，引入两个甲基称为磺胺二甲嘧啶(sulfadimidine)，其水溶解度随甲基的增加而提高，说明分子间缔合作用的降低超出了由于甲基推电子效应所引起的离解性能的降低，表 5-3 列出了这三个药物的物理常数。

表 5-3　磺胺嘧啶类药物的结构、物理性质和溶解度

药物	R	R′	pK_a	离解度(pH5.2)/%	溶解度(37℃)/(μmol/L)
磺胺嘧啶	H	H	6.5	3.9	0.5
磺胺甲嘧啶	CH_3	H	7.1	1.4	1.3
磺胺二甲嘧啶	CH_3	CH_3	7.4	0.7	2.4

甲基的引入可改变分子的构象，将于下节讨论。芳环上的甲基在机体内优先被代谢氧化，避免了在芳环上的羟基化，对降低药物的毒性是有利的。甲苯的毒性远低于苯，原因即在于此。

异丙基、环丙基和螺环丙基的电性对活性影响较小，但立体性对药效和药代有较大的影响。偕二甲基和螺环丙基不易发生代谢转化，而且可避免相连的碳原子产生的手性[13]。

芳环上引入叔丁基，会因增加亲脂性而改变吸收的性质，如果原来分子的亲水性较强，可因叔丁基的加入调整了分配性而有利，若原分子的亲脂性较强，会因过分亲脂性而不利于吸收。叔丁基具有对称性和较大的体积，在苯环上若有易受攻击的位置或基团，如羟基化或脱功能基作用，可在邻位引入叔丁基，其位阻效应可使邻位免受攻击。同样，$-CH(CH_3)-$基团也有类似的作用。

5.4.4 卤素

在脂肪系列中，C－F 键(键能 114 kcal/mol)强于 C－H 键(93 kcal/mol)，但 C－Cl 键(72 kcal/mol)、C－Br 键(59 kcal/mol)和 C－I 键(45 kcal/mol)均弱于 C－H 键。药物分子中的卤素多为氟或氯元素，连接于药效团的碳原子上。氟原子体积较小，范德华半径接近于氢原子，常常连接于分子易受代谢攻击的部位，以阻止代谢作用。三氟甲基的体积相近于氯原子，但化学活性却不同，例如酰氯 RCOCl 不可能成为药物，而 $RCOCF_3$ 的化学反应性是很低的。二氟甲氧基连接于芳环上以代替甲氧基，可降低去甲基化作用，增加代谢稳定性。

引入氯原子可增加分子的脂溶性、位阻作用和吸电子性的代谢稳定作用等。例如降压药可乐定(clonidine，27)分子中的 2,6-二氯取代的位阻作用，使得苯环与咪唑环呈正交性；而 3,4-二氯类似物(28)的两个环成共面性，二者活性相差 300 倍。

HN NH Cl N Cl

27

Cl N HN N H Cl

28

分子的脂肪链中氯和溴元素较少见，因为与氟元素相比，氯和溴容易以离子形式离去而成为亲电试剂，尤其是长期服用会有潜在的致毒性作用。然而与芳香环相连的卤素原子是稳定的，较少毒性。

由于 C－I 键较弱，容易释放出碘离子，引发急性过敏反应或慢性“碘症”，所以较少有含碘的药物。但治疗甲状腺素缺失的疾病和放射性对比剂分子中常常含有碘原子。

5.4.5 羟基

羟基替换氢原子会显著影响生物活性，表现在两个方面，一是改变物理性质所引起的，例如醇类的麻醉作用，如乙醇、叔戊醇和乙氯维诺(ethchlorvynol，29)的麻醉强度的差异取决于物理性质；酚、甲酚和间苯二酚的杀菌作用也与物理性

质有关，这些都是结构非特异性药物。另一是羟基的存在改变活性的特异性。例如抗血吸虫病药海蒽酮(hycanthone，30)的活性比无羟基的相应化合物硫蒽酮(lucanthone，31)高 10 倍。肾上腺素和去甲肾上腺素等多羟基化合物，羟基与受体间的氢键作用而起作用，酚基被醚化或酯化使活性降低。

29　　30　　31

含羟基的药物如吗啡、多巴胺、氟哌啶醇(hdoperido1，32)、γ-羟基丁酸、5-羟色胺和甾类药物，其(酚)羟基与受体形成氢键是重要因素。酪氨酸激酶(tyrosine protein kinase)的抑制剂苄叉丙二腈类化合物(benzylidene malononitriles，33)的活性与苯环上酚羟基数目密切相关，笔者研究定量构效关系提示，2 个或多个酚羟基比只有 1 个或无酚羟基的类似物活性强数十倍至数百倍，当酚基被甲醚化，活性降低，推测酚基作为氢键形成的氢给体与酶作用[14]。

32　　33

某些含酚羟基化合物的生物活性是由于在体内转化成醌式结构，后者作为电子载体参与氧化磷酸化过程。

许多药物在体内可被代谢产生羟基，可因此失去活性，例如苯巴比妥被氧化成 4-羟基苯巴比妥后其催眠和镇静作用完全消失；而有些药物代谢产生羟基而活化，比原药更有活性；还有的药物因引入了羟基，改变了活性类型，例如精神振奋药苯异丙胺(amfetamine)代谢氧化成 4-羟基苯异丙胺，后者不仅毒性降低，而且由精神兴奋作用变成升血压作用。

5.4.6　巯基和二硫基

巯基和二硫基虽然广泛存在于天然产物中，分别具有高度还原反应性能和稳定多肽或蛋白质立体结构的功能，但作为药物分子中的取代基则较少应用。卡托普利分子中含有巯基，是为了易于与血管紧张素转化酶的辅因子锌离子发生配位结合，但也因此导致其化学稳定性较差。巯基有较强的亲核性，与α,β-不饱和酮(如

查耳酮)发生迈克尔加成反应。二巯基丙醇可与重金属离子形成螯合物，用作砷、锑、汞和金中毒的解毒剂。

青霉胺分子中含有的巯基和氨基，可与铜、锌、铅和汞离子发生螯合作用，形成的螯合物具有水溶性，易于尿中排泄。含硫脲或异硫脲的杂环化合物如甲硫咪唑(thiamazole，34)和卡比马唑(carbimazole，35)是抗甲状腺素药物。

34　　35

二硫基常见于环肽类药物结构中，将两个不相邻的半胱氨酸残基的巯基氧化成二硫键，不仅增加了化学稳定性，而且限制了肽的柔性构象，可改变生物活性。

5.4.7　醚基和硫醚基

醚基 C—O—C 的键角与 C—C—C 键角相近，但因氧原子上有未偶电子对和氧的较强电负性，可以同其他分子的氢(给体)形成氢键，醚基的存在使分子增加极性，氧原子的亲水性和碳原子的亲脂性，使醚类化合物在脂-水界面处定向排布，因而对生物效应有一定的影响。硫醚与醚类的相异点是前者可氧化成亚砜或砜，亚砜或砜基的极性强于硫醚，同受体结合的能力以及作用强度因此有很大的不同。例如抗溃疡药、H^+/K^+-ATP 酶抑制剂奥美拉唑(omeprazole，36)的亚砜基是非常重要的药效团组成部分，还原成硫醚键或氧化成砜都失去活性。含亚砜及硫醚的重要药物还有非甾体抗炎药舒林酸(sulindac，37)，“替丁”类抗消化道溃疡药 H_2 受体阻断剂都含有硫醚键，如法莫替丁(famotidine，38)。

36　　37　　38

5.4.8　硝基

硝基具有亲寄生生物的特性，是许多化疗药物的必需基团，硝基的存在引起的物理化学性质的变化有：水溶解度降低，脂溶性增加，降低 pK_a，增加偶极矩等。

硝基的引入使化合物在体内的存留时间比无硝基化合物长，因而治疗和毒性作用较长。硝基使溶解度降低，可以引入助溶性基团如-SO_3H 和-COOH，以平衡溶解度。从生物化学角度看，硝基可被酶促还原，引起次级的生物活性，或发生更复杂的生物转化。硝基还会增加分解代谢的速率以及对某些酶系统的特异性抑制。事实上许多硝基化合物的化疗作用是由于硝基还原成氨基的缘故。卢比替康(rubitecan，39)即 9-硝基喜树碱，其抗癌作用是在细胞内被还原成 9-氨基喜树碱而奏效的(均未批准上市)。硝基的强吸电子效应还会改变螯合的能力。非甾体抗炎药尼米舒利(nimesulide，40)含有的硝基是呈现活性的必要基团，主要靠硝基的拉电子作用。

39　　　　40

5.5　药 效 构 象

构象(conformation)是由于分子中单键的旋转，造成原子在空间不同的排列状态所形成的异构现象。由于围绕单键旋转所需的能量较小(低于 5 kcal/mol)，因而在不改变化学键合的条件下，形成了分子形状的多样性变化，即构象异构体(conformers)。柔性分子在溶液中实际存在无数个构象体，它们之间处于平衡状态，不能分离为单一化合物。由 X 射线结晶学方法测定的分子构象可能是势能较低的优势构象(preferential conformation)，但也可能由于在形成晶体时的敛集效应(packing effect)而未必是能量最低的构象体。优势构象体与非优势构象体之间的势能差值与两者存在的比例关系为表 5-4 所示。

表 5-4　构象体的比例与势能差的关系

势能差值/(kcal/mol)	0.1	1.0	3.0	5.0
低能构象体：高能构象体	55：45	85：15	99.5：0.5	99.9：0.1

药物分子的构象变化与生物活性间有重要关系，这是因为药物与受体分子间相互适配和诱导契合中的结构和构象的互补性。与受体契合时药物分子的构象称作药效构象(pharmacophoric conformation)。药效构象未必是能量最低的优势构象，

因而由 X 射线结晶学测定的固态构象或二维核磁共振谱测定的溶液状态的构象或者由理论计算得到的优势构象可能不是与受体契合时的状态。药物与受体的相互作用中释放的能量可以补偿由优势构象转向不稳定的药效构象所需的能量。在生物体内药效构象与优势构象间的势能差值可允许到 5~7 kcal/mol。

药物分子的结构不同，但会以相同方式和作用机制结合于靶标，引起相同的药理或毒理效应，这是由于它们具有共同的药效构象，即构象等效性(conformational equivalence)。构象等效性不仅存在于同系化合物或(和)同型化合物，而且在结构差异很大或化学类型不同的化合物之间，也可能有相同的药效构象。

5.5.1　乙酰胆碱的药效构象

乙酰胆碱是柔性分子，可有数种可能的构象体，即参差(staggered)、歪扭(gauche)和重叠(eclipsed)式构象，如图 5-6 所示。

参差式　　歪扭式　　重叠式

图 5-6　乙酰胆碱构象体的纽曼投影式

这几种构象体的三甲铵离子与乙酰氧基之间相互位置不同，因而势能不相同，参差式最低，重叠式最高，歪扭式居中。参差式最稳定，重叠式最不稳定。为了研究构象体与烟碱样受体或毒蕈碱受体的相互作用以及胆碱酯酶的水解作用的关系，可合成半刚性顺式和反式的环丙烷同系物，将乙酰氧基和三甲铵基的相对位置固定在环丙烷的同侧或异侧，顺式乙酰氧环丙基三甲铵盐相当于用亚甲基连接的乙酰胆碱歪扭式构象体，反式化合物相当于参差式构象体。实验表明(+)-反式异构体对毒蕈碱样受体的作用与乙酰胆碱相同，不与烟碱样受体作用，容易被胆碱酯酶水解失活。而(±)-顺式体和(-)反式体对毒蕈碱样和烟碱样两种受体只有很弱的活性，说明乙酰胆碱在与毒蕈碱受体作用时为参差式的构象体。这种用环状结构使药物分子有刚性或半刚性的特征，但又不失去药效团的基本结构，限定构象的变化，是推断药效构象的一种方法。

顺式　　反式

5.5.2　三环类抗精神病药物的拓扑结构

三环类抗精神病药物的安定药(tranquilizer)和抗抑郁药(antidepressant)与三环系的结构有密切的关系，由氯丙嗪(chlorpromazine，41)的安定作用到阿米替林(amitriptyline，42)兼有安定作用和抗抑郁作用到丙咪嗪(imipramine，43)只有抗抑郁作用，形成药理活性的逐渐变化。虽然安定药和抗抑郁药的作用方式从分子水平考察是不同的，但药物的立体化学及构象差异与上述药理作用的递变似乎有一定关系。图 5-7 是这 3 个化合物的三环系拓扑学的比较。三环系的 2 个芳环可以用 3 种角度描述。α角是两个芳环沿杂环的含氮的边的弯曲角度；β角是经过两个芳环 1，4 位轴构成的稠合角度；γ角是由分子的一侧观测的芳环的扭曲角度。氯丙嗪作为安定药只有弯曲角；兼有安定和抗抑郁作用的阿米替丁除有弯曲角外还有稠合角；丙咪嗪只有抗抑郁作用，除有上两种角度外，尚有扭曲角。

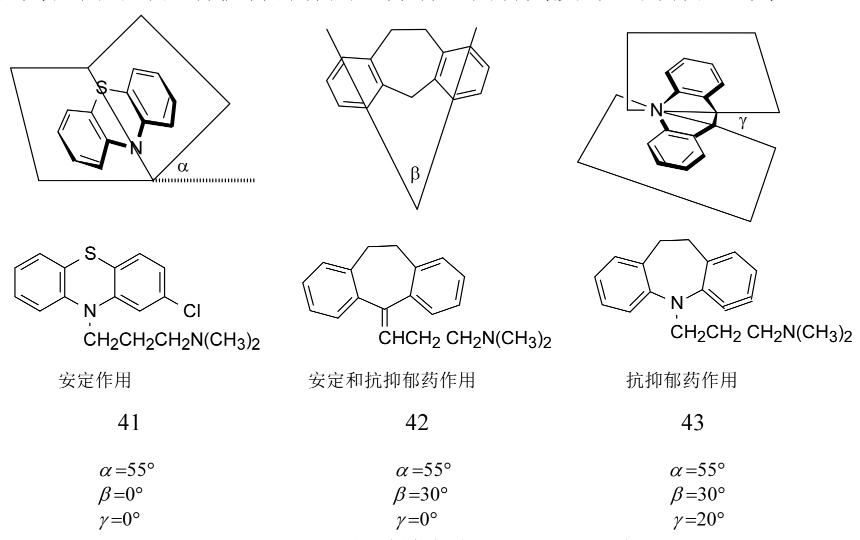


图 5-7　三环系抗精神病药的环拓扑学示意图

由于三环化合物的受体结构尚不清楚，但肯定与多巴胺和去甲肾上腺素等神经递质的受体或转运蛋白有密切关系。这 3 种环系的母核本身没有抗精神病作用，但连接上二甲胺基丙基药效团侧链却能呈现出不同的药理活性。

5.5.3　氯丙嗪的药效构象

X 射线晶体衍射图表明，氯丙嗪(图 5-8(a))与多巴胺(图 5-8(b))的构象有相似之处，可部分地重叠在一起(图 5-8(c))，反映了氯丙嗪与多巴胺受体结合的结构基础。氯丙嗪(43)优势构象的胺基侧键朝向于带氯原子的苯环方，也可由氯普噻吨(chlorprothixene)的顺式体(44)和反式体(45)的活性差异得到佐证：顺式体的碱性侧

链与氯原子处于同侧，活性强于反式体数倍，顺式氯普噻吨与氯丙嗪优势构象的碱性侧链在相同一侧[15]。

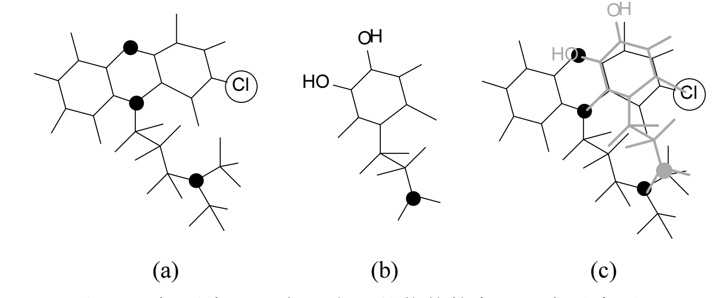


图 5-8　氯丙嗪(a)、多巴胺(b)的优势构象和两者叠合图(c)

43　　44　　45

5.5.4　多巴胺与受体结合的优势构象

多巴胺(dopamine，46)是中枢神经系统的重要递质，许多神经退行性病变如阿茨海默病、帕金森病和精神分裂等病症与中枢的多巴胺缺少或多巴胺能系统功能紊乱或异常有关。

多巴胺是柔性分子，可以有多种构象体存在，其中一种反式体和两种歪扭体为主要存在的形式，理论计算表明反式体为优势构象，歪扭体也占有一定的比例，与反式体的能量差仅为 4~8 kJ/mol。为了确定与受体结合的活性构象，理论计算是难以回答的。因为这个差值比较小，即使歪扭式是与受体结合的药效构象，由反式体转变成歪扭体所需的能量也可由与受体的结合能补偿。用刚性或半刚性的多巴胺类似物间接地确定多巴胺的药效构象，即反式体关系。

46

反式体　　歪扭体

反式体的苯环也可以有不同的空间取向：儿茶酚环垂直于 CH_2-NH_2 键(*trans*-α)

和与 CH_2-NH_2 键共平面(*trans*-β)：

反式α　　反式β

这两个构象体的能量差是很小的，虽然由核磁共振的偶合常数和晶体的衍射数据以及分子轨道计算表明 *trans*-α为优势构象，但药理试验提示呈现活性的构象体为 *trans*-β，后者是相当平的分子。*trans*-β体仍可有两种旋转体：A 旋转体(47)和 B 旋转体(48)：

47　　48　　49　　50

旋转体 A 和 B 是能量更为接近的构象体，用半刚性类似物 5,6-二羟基-2-氨基四氢萘(49)和 6,7-二羟基-2-氨基四氢萘(50)分别作为 A 和 B 旋转体的构象等效物，药理活性表明 50 比 49 高，说明 B 旋转体为活性构象体，并追溯证明了 *trans*-β体是活性构象[16]。

5.5.5　阿片类化合物

以吗啡为代表的作用于阿片受体的中枢神经系统镇痛物质，已合成有上千个衍生物和简化物，目的是保留或增强镇痛效果，去掉或降低毒副作用如中枢抑制、成瘾性和便秘等副作用。吗啡分子中含有 5 个环，构成类似于立体的“T 形”，环 A、B 和 E 相当于 T 的竖直部分，C、D 环构成略呈扭曲面的水平部分。A、B 平面与 C、D 面为 30º 夹角(图 5-9)。

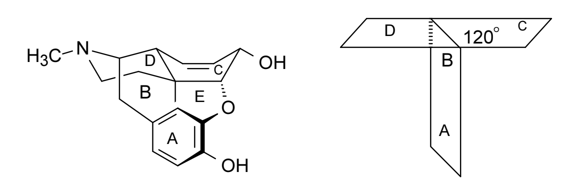


图 5-9　吗啡分子的立体形状

A、B 和 E 环是比较稳固的刚性结构，C 环为船式构象，但吗啡的一些衍生

物呈椅式，D 环为椅式，氮原子上甲基的体积由于比孤电子对或氢原子体积大，占据平展键。

哌替啶(pethidine，图 5-10 中的实线结构)为合成的吗啡简化物，有镇痛作用，它是 4-苯基哌啶化合物，可有两种构象，一种苯环处于直立键(ph-a)和两种处于平展键的构象体(ph-e(A)和 ph-e(B))。图 5-10 是哌替啶的不同构象体和与虚线勾画的吗啡构象的比较。

ph-a　ph-e(A)　ph-e(B)

图 5-10　哌替啶和吗啡的构象比较

由于 ph-a 和吗啡的重合较好，似乎 ph-a 是哌替啶镇痛作用的活性构象，但在平衡状态下 ph-a 构象体非常少，因为在生理条件下，氮原子被质子结合，带正电荷的哌替啶经 X 射线结晶学研究和量子化学计算表明，正电荷也部分地分布在与氮相连的碳原子上，此时苯环取平展键位置，酯键取直立位置，有利于对静电引力的稳定作用，因而 ph-e 体是镇痛的活性构象，用半刚性的化合物 *N*-甲基-3-羟苯基吗吩烷(51)证明了 ph-e 构象是活性体，因为它的苯环固定在平展键的位置，而且镇痛活性与吗啡相同。

51

然而，含有 4-苯基哌啶环的 ph-a 和 ph-e 差向异构体都有活性，表明芳环在空间的取向可能对活性的影响差别不大。这可以解释为处于直立键时与吗啡的芳环的位置相似，处于平展键时相当于吗啡的 C 环，此时氮原子与受体的结合位置是相同的。

用线性自由能相关法对哌替啶(52)的 *N*-烷基或阿法罗定(alphaprodine，53)的 *N*-烷基及吗啡的 *N*-烷基的不同取代进行镇痛活性比较，若哌替啶和阿法罗定同吗啡的 *N*-烷基与受体的同一部位结合，则由 N-CH_3 用体积较大的 N-CH_2CH=CH_2(54)

代替时，结合能应是相同的，镇痛作用 ED_{50} 与结合能是相关的，因此若这 3 个系列的衍生物的 ED_{50} 有相关性，则表明 *N*-烷基与受体的结合部位是同一的。结果表明哌替啶和阿法罗定的烷基变化与活性改变呈线性相关，证明氮的结合部位的一致性，但两者与吗啡系列不相关，说明吗啡的 N-R 与哌替啶和阿法罗定的结合点不相同，这一点可由 *N*-烯丙基吗啡是吗啡的拮抗物，而 *N*-烯丙基羟基哌替啶没有拮抗作用清楚地证明了。

52　　53　　54

55 相对于纳洛酮(naloxone，56)可能有两种构象，若哌啶环取相同位置，苯环处于不同的取向，则两者的 *N*-烯丙基在受体部位处于相同的位置，此时 *N*-烯丙基-(3-羟苯基)吗吩烷应与纳洛酮的作用相同，这样 55 应表现为吗啡的拮抗剂。但事实上 *N*-烯丙基(3-羟苯基)吗吩烷是阿片式体激动剂，没有拮抗作用，55 可采取的构象是与 56 的苯环处于相同位置，而 *N*-烯丙基位置不同，如图 5-11 所示，以此说明两者的活性差异。所以，苯环的空间取向可能只起到与受体的初始结合作用，它的位置并不十分重要，而哌啶环，特别是 *N*-烷基的位置是很重要的。

55　　56

图 5-11　纳洛酮(左)与 *N*-烯丙基-(3-羟苯基)吗吩烷(右)的比较

20 世纪 70 年代年发现了一些具有阿片样作用的内源性肽，其中有甲硫氨酸-

脑啡肽(methionine-enkephalin，57)和亮氨酸-脑啡肽(leucine-enkephalin)，两个五肽都具有强镇痛作用，但容易被体内的氨基肽酶水解掉 N 端的酪氨酸而失活，若将 L-酪氨酸换成 D-构型，或酚羟基被除去或保护，均会失去活性，说明酪氨酸残基的重要性。

L- 酪氨酰-甘氨酰-甘氨酰-L- 苯丙氨酰-L- 甲硫氨酸

57

脑啡肽与阿片类化合物都具有镇痛作用和与相同的受体结合。比较亮氨酸-脑啡肽和吗啡的结构，表明两者之间有类似的拓扑结构，如图 5-12 所示。

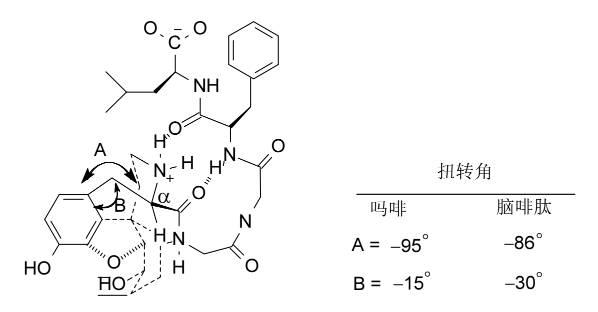


图 5-12　脑啡肽与吗啡(部分结构为虚线)拓扑图的比较

5.5.6　二氢吡啶钙拮抗剂的构象

二氢吡啶类(dihydropyridines)化合物如硝苯地平(nifedipine，58)和氨氯地平(amlodipine，59)是一类钙离子通道的拮抗剂，临床用于治疗高血压和心肌梗塞。构效关系表明苯环上邻位存在取代基是重要的，它可以因位阻效应使苯环处于同二氢吡啶环呈垂直的构象，并认为这种构象对钙拮抗作用是必需的。X 射线结晶学研究表明，在结晶状态下的优势构象也是这种垂直的取向，如图 5-13 所示。

58　　59

图 5-13　二氢吡啶化合物的构象示意图

由于二氢吡啶类化合物是相当柔性的分子，为证明与受体结合时活性构象与固态观测到的构象是否一致，用内酯环将苯环的 2′位与二氢吡啶的 3 位相连(图 5-14(a))并改变$(CH_2)_n$的数目，以确定环的大小与苯环和二氢吡啶环角度的关系。n=0~6 的内酯环化的二氢吡啶化合物的 X 射线晶体衍射叠合图如图 5-14(b)所示。

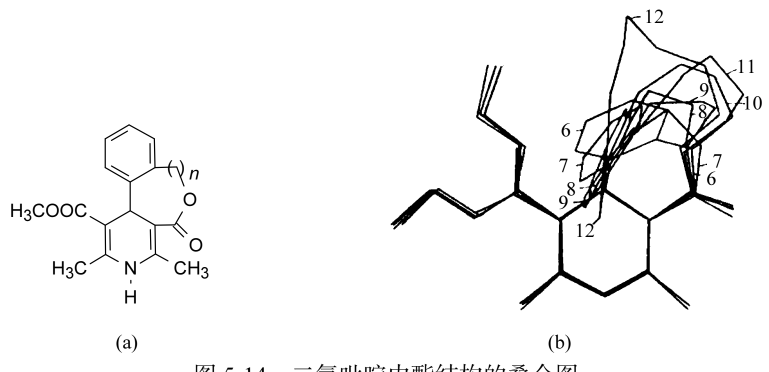


图 5-14　二氢吡啶内酯结构的叠合图

当内酯环较小(n=0，1，即呈六元或七元环)时，苯环与二氢吡啶环近于共平面，这两个化合物对钙通道无拮抗作用；随着内酯环增大(n=2~6)，活性递增，由 X 射线晶体图可见酯环变大，柔性增加，这时苯环和二氢吡啶环取垂直位置的构象的概率增大。图 5-15 是偏离两环垂直的角度$\Delta\alpha$与对 ^{3}H-尼莫地平-受体结合作用的置换能力(K_i，nmol/L)的作图，表明内酯环增大，偏离直角的角度降低，与受体的结合能力增强。

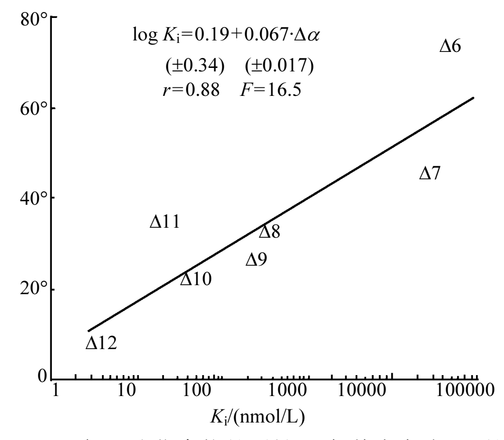


图 5-15　二氢吡啶化合物的活性 K_i 与偏离角度$\Delta\alpha$的作图

5.5.7　芳香族维生素甲的构象

全反式维甲酸(retinoic acid，60)及其衍生物是调节细胞分化和维持正常细胞

生长和发育的外源性物质。膳食中缺少维甲酸或其衍生物，动物就会停止生长，并呈现上皮细胞恶性病变的趋势。维甲酸在预防和治疗上皮细胞癌性病变和急性早幼粒白血病(APL)有确定的疗效。但由于“维甲过高症”等毒副作用，限制了维甲酸的广泛作用。合成维甲酸的衍生物和类似物目的是提高活性和特异性，降低不良反应，以用作癌化学预防和治疗药。

构效关系表明，为了维持维甲类的诱导细胞分化作用，必须同时满足以下 3 个结构因素：

(1) 分子的一端为疏水部分，并有一定的立体障碍，如全反式维甲酸左边的三甲基环己烯片段；

(2) 分子的另一端为极性基团，如全反式维甲酸右边的羧基，或是羧酸的衍生物；

(3) 疏水部分与极性部分由共轭链连接，整个分子形成共轭体系。

分子结构若满足以上 3 个前提，或具备类似的拓扑结构，或构象的等价性，则呈现维甲类生物活性。芳维甲(arotinoid，61)就是维甲酸的芳香性构象等价物，其诱导细胞分化作用强于维甲酸。继而发现的酰胺类化合物他米巴罗汀(tamibarotene，62)已批准成药上市[17]。61 的酰胺键通过 p-π共轭维持了整个分子与维甲酸的等效构象，虽然引入了氮原子，却对活性影响不大。

COOH　COOH　COOH H N O

60　61　62

比较上述 3 个分子的形状、功能基配置和分子长度，表明有很多的相似性，如图 5-16 所示。

COOH COOH COOH H N O

图 5-16　维甲酸及其类似物的相似性比较

笔者合成了双叔丁基苯甲酸、苯胺或查耳酮的衍生物，实验证明图 5-17 所列

的化合物都有诱导细胞分化作用。X 射线晶体学研究和分子力学计算表明，a 与维甲酸有相类似的构象，图 5-17 是结晶学图形的比较，可以看出分子的长度和空间走向的相近性。

图 5-17　双叔丁基苯甲酸类化合物结构和与维甲酸晶体结构的比较

若 X=CONH 化合物的游离羧基由对位转至间位，活性完全丧失，其原因是：①间位羧基未与分子的共轭体系共轭；②分子力学计算表明其构象与维甲酸相差颇大。如果 X=CONH 化合物的酰胺氮原子被甲基化，生物活性完全丧失，其原因是 *N*-甲基的存在迫使含羧基的芳环处于与另一芳环呈顺式构象的位置，以解除二芳环呈反式构象时甲基氢与苯环 2 或 6 位氢的位阻效应。X 射线晶体学与分子力学计算表明优势构象是两个苯环呈顺式构象的位置，核磁共振氢谱也提供了佐证。由于两苯环的各向异性作用，氢谱的化学位移均比相应的无甲基取代的化合物向高场移动。*N*-甲基化合物呈顺式的“折叠”构象，与维甲酸的构象相差甚远，因而没有诱导细胞分化作用。它与维甲酸优势构象的比较，也示于图 5-18 中[18]。

基于构象等效性原理，他扎洛汀(tazarotene，62)也满足了疏水性、共轭体系和羧基的药效团要求，是维甲酸受体(RAR)激动剂，临床用于治疗牛皮癣和慢性炎性皮肤病[19]。

全反式维甲酸在体内可转变成 13-顺式维甲酸(63)，后者既可结合并激活维甲酸受体 RAR，也是维甲 X 受体(RXR)激活剂，13-顺式维甲酸治疗牛皮癣和痤疮，副作用低于全反维甲酸。倍沙洛汀(bexarotene，64)作为 13-顺式维甲酸的构象等效物，是治疗皮肤早期 T 细胞淋巴瘤的有效药物[20]。

$COOC_2H_5$　　$COOH$　　CH_2　CH_3　$COOH$

62　　63　　64

5.5.8　联苯类保肝药物的构象

五味子丙素(schizandrine C，65)具有肝保护作用，能够保护实验动物的肝脏免受四氯化碳的损伤。但其简化物——环辛二烯的剖裂物 4,5,4′,5′-双(亚甲二氧基)-6,6′-二甲氧基-联苯 2，2′-双羧酸甲酯(α-联苯双酯，66)却无保护肝的作用；而它的位置异构物 4,4′-二甲氧基-5,6,5-,6-双-(亚甲二氧基)-联苯-2,2′-二羧酸甲酯(γ-联苯双酯，67)的活性非常高，临床已用作治疗慢性肝炎和降低转氨酶的保肝药。

65　　66　　67　　68

α-体和γ-体的区域异构物 4,6′-二甲氧基-5,6,4′,5′-双(亚甲二氧基)-联苯-2,2′-双羧酸甲酯(β-联苯双酯，68)的活性比γ-体的活性更高。紫外吸收光谱研究表明，γ-体最大吸收波长为 276 nm，β-体紫移至 273 nm，α-体的λ_{max}最短，为 269 nm。皆知，联苯化合物的共面性与共轭性能和紫外最大吸收波长呈正相关关系，共面性越好，共轭性能高，紫外最大吸收波长红移。显然，γ-联苯双酯的 5,6,5′,6′-双亚甲二氧基的环状结构的空间障碍小于α-体的 6,6′-二甲氧基的位阻，因而后者迫使联苯扭转较大的角度，以解除二甲氧基间的位阻，共轭性较差，紫外最大吸收于短

波区，X 射线结晶学数据和分子力学计算表明，联苯双酯的γ-体、β-体和α-体的联苯的扭曲角依次递增，与紫外最大吸收波长的次序一致．说明联苯环共面性较好的化合物，有利于增强药效活性。另一方面，β-体与γ-和α-体不同，为不对称分子，水溶解性和生物利用度比γ-和α-体高，所以，药代动力学性质的改善使β-体具有最高的保肝活性。然而由于γ-体容易化学合成，γ-联苯双酯已上市用作保肝药物。

γ-联苯双酯的 2,2′,6,6′四取代，造成联苯键的旋转受阻，这种阻转异构导致γ-联苯双酯成为手性分子，经化学拆分，得到(+)-联苯双酯的(-)-联苯双酯。动物试验表明，(+)-异构体的活性为消旋体的 2 倍，(-)-异构体无活性。

双环醇(bicyclol,69)为消旋的 4,5,4′,5′-二(亚甲二氧基)-6,6′-二甲氧基联苯-2-羟甲基-2′-羧酸甲酯。其降酶活性强于联苯双酯，而且对乙型肝炎患者的血清病毒有明显转阴作用。双环醇也为手性药物，(-)-异构体活性为消旋体的 2 倍，(+)-异构体无活性[21]。

OCH_3　$COOCH_3$　CH_2OH　OCH_3

69

参 考 文 献

[1] Evans B E, Rittle K E, Bock M G, et al. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecyctokinin antagonists. J Med Chem, 1988, 31:2235-2246

[2] 郭宗儒. 药物分子设计. 北京: 科学出版社, 2005, 384

[3] Muegge I, Heald S L, Brittelli D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. J Med Chem, 2001, 44: 1841-1846

[4] Dayam R, Sanchez T, Clement O, et al. β-Diketo acid pharmacophore hypothesis. 1. Discovery of a novel class of HIV-1 integrase inhibitors. J Med Chem. 2005, 48: 111-120

[5] Palomer A, Cabre F, Pascual J, et al. Identification of novel cyclooxygenase-2 inhibitors using pharmacophore models. J Med Chem. 2002, 45: 1402-1411

[6] Debnath A K. Pharmacophore mapping of a series of 2.4-diamino-5-deazapteridine inhibitors of Mycobacterium avium complex dihidrofolate reductase. J Med Chem. 2002, 45: 41-53

[7] Kalgutkar A S, Gardner I , Obach R S, et al. Comprehensive listing of bioactivation pathways of organic functional groups. Curr Drug Metab, 2005, 6: 161-225

[8] Kassahun K, Skordos K, McIntosh I, et al. Zafirlukast metabolism by cytochrome P450 3A4 produces an electrophilic alpha,beta-unsaturated iminium species that results in the selective

mechanism- based inactivation of the enzyme. Chem Res Toxicol, 2005, 18: 1427-1437

[9] Taglialatela M, Castaldo P, Pannaccione A, et al. Cardiac ion channels and antihistamines: possible mechanisms of cardiotoxicity. Clin Exp Allergy, 1999, 29: Suppl 3, 182-189

[10] Tseng G N. Ikr: the hERG channel. J Med cell Cardiol, 2001, 33:835-849

[11] Pettit G R, Temple C Jr, Narayanan V L, et al. Antineoplastic agents 322. Synthesis of combretastatin A-4 prodrugs. Anti-Cancer Drug Des, 1995, 10: 299-309

[12] Hansch C, Anderson SM. The effect of intramole-cular hydrophobic bonding on partition coefficients. J Org Chem, 1967, 32: 2583-2586

[13] Nadler V, Kloog Y, Sokolovsky M. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) mimics the effects of glycine on the NMDA receptor ion channel. Eur J Pharmacol, 157: 115-116

[14] 郭宗儒，后藤了，杨光中等. 用定量构效关系分析进行酪氨酸激酶抑制剂的结构类型衍化. 药学学报, 1992, 27: 90-95

[15] Horn A S, Snyder S H. Chlorpromazine and dopamine: conformational similarities that correlate with the antischizophrenic activity of phenothiazine drugs. Proc Nat Acad Sci USA, 1971, 68: 2325-2328

[16] Horn A S. Conformationally restricted analogues of neurotransmitters ans drufs// Horn AS, De Ranter C J. X-ray crystallography and drug action. Oxford: Clarendon Press, 1984, 235

[17] Kawachi E, Hashimoto Y, Himi T, et al. Retinobenzoic acids. 1. Structure-activity relationships of aromatic amides with retinoidal activity. J Med Chem, 1988, 31: 2182-2192

[18] 郭宗儒，刘全志，王敏敏等. 维甲类化合物的研究 IV. 双叔丁基苯类化合物的设计合成和构效关系. 药学学报, 1997, 32: 830-839

[19] Yen A, Fenning R, Chandraratna R, et al. A retinoic acid receptor beta/gamma-selective prodrug (tazarotene) plus a retinoid X receptor ligand induces extracellular signal-regulated kinase activation, retinoblastoma hypophosphorylation, G0 arrest, and cell differentiation. Mol Pharmacol, 2004, 66: 1727-1737

[20] Boehm M F, Zhang L, Zhi L, et al. Synthesis and structure-activity relationships of novel retinoid X receptor-selective retinoids. J Med Chem, 1994, 37: 2930-2941

[21] 胡伟，张纯贞，李燕. 抗肝炎药(±)-双环醇的拆分. 药学学报, 2006, 41: 221-224

第 6 章　定量构效关系

6.1　概　　述

6.1.1　定量构效关系的定义

上一章讨论的药物化学结构和生物活性关系，集中在定性方面，即从分子的结构、药效团、片段、构型和构象等不同的层面考察与活性强弱及有无的相关性，从而揭示药物的作用机制和作用方式，并为设计新的药物分子提供依据。本章拟用定量的方法讨论药物的结构和活性之间的关系。定量构效关系(quantitative structure-activity relationships，QSAR)是研究一组化合物的活性或毒性或药代性质与其结构之间(structural)、物理化学性质之间(physicochemical)或拓扑结构之间(topological)的相关的关系，用数理统计的方法揭示化合物活性与上述结构特征或性质的变化规律，并以数学模型或图形表征其间关系的量变规律。定量构效关系的研究方法比定性考察深入了一步，因为学科的进步与成熟的标志是可以定量地表达和描述。诚然，由于机体的复杂性、受体分子的复杂性以及与药物分子相互作用的多样性，用数学公式或图形表述构效关系的量变规律，须做出很多简化和限制条件，因而还不能准确详尽地揭示药物在体内的过程和与受体的相互作用。但是现今所用的这种分析-综合的方法仍可较精确地处理量化的活性和结构参数的关系，因而，在深层次上得出的结果比定性分析更有意义。

由于表征结构的参数不同，定量构效关系表现形式不同，可以用一维或二维变量(2D-QSAR)进行分析，也可以用三维方法(3D-QSAR)。

6.1.2　定量构效关系的历史发展和研究范围

关于化合物的生物活性与其结构之间的相关性认识，早在 1869 年就由 Crum-Brown 和 Frazer 用简单的公式(6-1)表述这种关系[1]：

$$\phi = F(c) \tag{6-1}$$

式中ϕ和 c 分别代表分子的生物效应和结构性质，F 为转化因子。该式表示了化合物的生物活性与其化学结构存在着某种函数关系。由于当时的科学发展限制，缺乏表征化学结构的物理量，因而未能加以展开和证实，这个思想其后被 Richt 的

实验所证实，他发现化合物的麻醉作用与其水溶解度成反比。Meyer 和 Overton 证明某些简单分子对蝌蚪的非特异性麻醉作用与化合物的脂水分配系数呈平行关系。1939 年 Ferguson 用数学式表述了化学结构与生物化的关系[2]：

$$\lg 1/c_i = m\lg A_i + k \tag{6-2}$$

式中 c_i 是系列中第 i 个化合物产生指定生物效应的浓度；A_i 是第 i 个化合物的溶解度、分配系数或蒸气压等物理化学参数；系数 m 和常数 k 是该化合物类型在该特定生物系统的特征值。然而这种定量地表示构效关系，未能得到实际应用和发展。

直到 20 世纪 60 年代 Hansch 和藤田稔夫将有机化学的 Hammett 和 Ingold 有关取代基的电性和立体效应对反应的影响可以定量地评价并可外延的原则，用于处理药物分子的生物活性与化学结构的关系，确定了定量地研究构效关系的科学构思和方法。Hansch 和藤田划时代地开创了定量构效关系(QSAR)新领域[3]。

Hansch 和藤田将不同的物理化学参数以线性加和的方式表征药物活性的变化[式(6-3)]，并且用基团疏水性参数 π 代替需要测量的亲脂性参数——分配系数[式(6-4)]；此外，Hansch 等还建立了抛物线模型以描述生物活性与疏水性间非线性关系[(式 6-5)]。

$$\lg 1/c = a \lg P + b\sigma + \cdots + c \tag{6-3}$$

$$\pi_{\mathrm{x}} = \lg P_{\mathrm{R\text{-}X}} - \lg P_{\mathrm{R\text{-}H}} \tag{6-4}$$

$$\lg 1/c = a (\lg P)^2 + b\lg P + d\sigma + \cdots + c \tag{6-5}$$

与此同时，Free 和 Wilson 用数学加和模型研究了定量构效关系[4]，该模型用式(6-6)表示：

$$\lg 1/c = \sum a_{ij} + \mu \tag{6-6}$$

式中 a_{ij} 是取代基 X_i 在位置 j 处的活性贡献，μ 是母体化合物的生物活性。Kier 等根据拓扑学原理用分子连接性(molecular connectivity)指数作为描述化学结构的参数[5]。这些用物化参数、结构参数和拓扑参数与生物活性的相关性研究，大多用多重回归分析方法，求出描述构效关系的数学方程。此外，作为人工智能方法的另一个分支，模式识别方法是用物理化学数据和(或)生物学数据对化合物进行分类[6]。偏最小二乘方法(partial least squares, PLS)是另一种统计学方法，对于处理自变量多而化合物及活性数据少的相关分析是很方便的[7]。

三维定量构效关系(3D-QSAR)最初是试图用 Hansch-藤田分析法获得受体表面的图形[8]，Hoeltje 提出用氨基酸残基作为与药物结合的部位，计算它们之间的

相互作用能，并分析了能量与活性之间的相关性[9]。距离几何法(distance geometry)是另一种 3D-QSAR 方法，用来映射受体表面的特征[10]。比较分子力场法(comparative molecular field analysis，CoMFA)是将一系列化合物的分子力场与其生物活性相关的定量操作[11]，将构象优化的化合物在网格化的三维空间中进行叠合，并在网格化的分子周围计算每个节点的立体场和静电场，用多变量统计方法如偏最小二乘法分析能量值与活性值之间的相关关系。

定量构效关系是一种研究方法，是将分子的化学结构与其生物效应间关系进行定量地解析的方法或技术，它融合了物理化学、物理有机化学、量子化学、生物化学、药理学和统计学等多种学科的知识与技术，目的是在受体结构未知的情况下，揭示化合物的结构和活性的依赖关系，建立表征这种关系的数学模型，以预测新化合物的活性，演绎受体与药物结合并呈现活性时的立体环境和物理化学要求。进行定量构效关系研究，需要满足以下两个前提：一是定量地表述整体化合物的化学结构或局部结构的物理化学性质，即将化合物的结构特征或由结构所决定的性质用数值表达；另一是定量地表述生物活性。在此基础上用适当的数学模型建立两者的关系。

药物与其受体的相互作用是由分子间的识别和结合所驱动。研究定量构效关系是推导出某种模型，将活性与物理化学参数相关联(Hansch-藤田分析)，或与隐含在不同结构特征的基团参数相关联(Free-Wilson 分析)。药物与酶、受体、离子通道、转运蛋白或其他生物大分子结合并产生活性，一定是以其三维结构与受体的结合部位呈互补性，互补性越匹配，亲和力越高，结合得越强，生物活性越高。

除了与受体三维结构的互补性外，药物还需到达作用部位，这时药物的溶解性、分配性和离解性等起决定性作用。在复杂的生物系统中如细胞、离体器官乃至整体动物实验，药物要穿越脂质性细胞膜和经历多次的水相-脂相间的分配。即使离体试验，在受体结合部位与药物分子均环绕水分子，溶剂效应、去水合、水合和氢键的断裂或形成等都是要考虑的因素。

QSAR 用来揭示与证实生物活性与结构特征或物化性质的定量依存关系，如果受体的三维结构是已知的，则药物与其的相互作用在计算机辅助下，可以在三维空间中作分子模拟，但没有涉及药物的转运、分布、代谢等过程。而经典的 Hansch 分析可以考察整体动物的药效和药代的综合行为。

6.2 线性自由能相关分析法

6.2.1 Hansch-藤田分析法的导出

Hansch 和藤田为了考察药物作用的过程与结果，以热力学原理为出发点，认为药物分子呈现生物活性，首先需要达到作用部位。生物体是由许多非均相系统所组成，药物分子从给药部位的吸收和转运到作用部位，需要多次穿越细胞膜，在水相和脂相进行多次分配，与生物膜发生吸附和解吸附等过程。到达作用部位后，药物分子与生物大分子发生相互作用，产生药理作用。药物在作用部位与受体相互作用也是个复杂的过程，包括受体周围的非均相成分如水分子、蛋白和脂质颗粒等会发生扰动作用(perturbation)，受体分子的构象发生变化，与药物分子的结合以及在能量状态上发生变化等。

药物分子在体内的转运和与受体的结合过程，本质上是物理化学的作用，这些作用比无机反应、有机反应以及均相平衡过程复杂得多，因而很难对上述过程的各个阶段及其机制作出精确的解析。Hansch 和藤田分析法分析上述复杂的生物学现象虽然基于热力学原理，但难以对微观过程和分子机制作出明确的分析，所以称作超热力学方法(extrathermodynamic approach)。

机体从开始给药到出现生物效应的总过程包含许多环节，主要是转运过程和药物-受体相互作用，这是由许多个单个速率过程和平衡过程所构成。在瞬息时间产生的生物效应(速率)可用式(6-7)表示：

$$\mathrm{d}\,\text{效应}/\mathrm{d}t = BKkc \tag{6-7}$$

式中，c 是药物的摩尔浓度或给药部位的初始剂量；K 是相继发生的一系列平衡过程的总平衡常数；k 是全过程中限速步骤的速率常数；B 是比例因子，是联系药物与受体相互作用强度同观测的生物效应大小的转换因子，为一常数。式(6-7)所表示的过程是基于稳态学说构成的，如果过程的第一步是限速步骤则 K 就不需要考虑了，上式变为式(6-8)：

$$\text{效应}=Bkc \tag{6-8}$$

若生物评价使用离体组织或器官，药物直接加到组织或器官所处的介质中，转运过程则比较快，在给药部位和作用部位之间的药量形成平衡状态。在这种情况下，给药的短时间后，生物效应的强度维持恒定，可用式(6-9)表示：

$$\text{效应}=BKc \tag{6-9}$$

式中的 c 是介质中药物的摩尔浓度或剂量，理论上讲它是达到平衡状态的数值，这是因为介质的容积通常比生物相大得多，生物相中的药量相对很少，因此可认为 c 是初始的给药量或浓度。

生物活性强度常常是用在给药后的一定时间，达到同样效应时的浓度或剂量来表示，例如半数有效浓度 EC_{50}，半数抑制浓度 IC_{50}，半数致死量 LD_{50} 和最低抑制浓度(MIC)等，在测定系列化合物的活性时，式(6-8)和(6-9)的左侧是固定不变的，B 对于给定的系统也认为是个常数，这样，式(6-8)和(6-9)可分别改写成式(6-10)和(6-11)：

$$\lg 1/c = \lg k + 常数 \tag{6-10}$$

$$\lg 1/c = \lg K + 常数 \tag{6-11}$$

方程(6-10)和(6-11)中的 c 是等效浓度或等效剂量，若给药方式固定不变，则剂量与给药的第一隔室中的浓度成正比。$1/c$ 或 $\lg 1/c$ 实际是药物的生物活性的量度，数值越大，药物的活性越强。

我们知道，系统的平衡常数或过程的速率常数分别与自由能变化(ΔG^0)或活化自由能变化($\Delta G^{\ddagger}$)成比例，如式(6-12)和(6-13)所示：

$$\lg K = -\Delta G^0/2.303RT \tag{6-12}$$

$$\lg k = -\Delta G^{\ddagger}/2.303RT + \lg (RT/Nh) \tag{6-13}$$

显然，生物活性值 $\lg 1/c$ 值是自由能相关的生物学参数。药物在体内的转运和与受体作用的过程，其自由能变化或活化自由能变化的内涵，包括有药物分子在生物相中分配性质，与受体分子作用部位的电性作用和立体效应等，也就是说，药物的分配系数、电性参数和立体参数的改变，影响药物的转运和与受体作用的自由能变化。Hansch 因此提出了包含各种与自由能相关的参数的普遍方程 6-14，即线性自由能相关方法(linear free-energy related method)。

$$\lg(1/c) = a(\lg P)^2 + b\lg P + \rho\sigma + \delta E_0 + C \tag{6-14}$$

对于系列化合物，若只改变基本结构上的取代基，式(6-14)可换作式(6-15)：

$$\lg(1/c) = a\pi^2 + b\pi + \rho\sigma + \delta E_0 + C \tag{6-15}$$

式中，$\lg P$ 为分配系数；π 是取代基的疏水性常数，代表化合物的疏水性质对转运和(或)与受体作用的影响；σ 是 Hammett 方程中取代基电性常数，代表药物分子的电性对活性的影响；E_0 是 Taft 基团立体常数(Taft’s steric constant)，代表药物分

子的立体因素对活性的影响；C 为常数，与化合物的类型、测定生物活性所用的生物材料及实验条件等有关。

方程中 a、b、ρ 和δ是各个参数系数，表明各项因素在药物作用中的重要性，这些系数的大小(包括正值或负值)取决于化合物类型、生物系统和作用方式。药物的构效方程中，并非式(6-14)和(6-15)中的各项永远都是显著的，如果某因素对活性没有影响或该影响不显著，其效应的系数为零，则无该项贡献。这些系数是用最小二乘法，经回归分析求出的，每个系数的显著性水平用统计学方法判断，如 Student 和 F 值检验等。

6.2.2 Hansch-藤田分析法的操作步骤

线性自由能相关分析或 Hansch-藤田分析法进行定量构效关系的操作包括如下数个步骤：

(1) 从先导化合物(lead compound)出发，根据药物化学原理和一定的规则，设计选择首批化合物并加以合成；

(2) 用离体或在体的生物系统，定量地测定和评价化合物的活性；

(3) 测定或计算化合物的物理化学参数或取代基常数；

(4) 用回归方法确定某个或某几个与生物活性呈显著相关的物理化学参数，得到 Hansch-藤田方程；

(5) 用得出的方程解释作用方式或作用机制，预测新化合物的活性，并指导设计下一轮化合物进行合成。

重复上述(1)~(5)步骤，可以得到更臻完善和显著的构效方程，深入揭示和阐明作用机制，指导设计更高活性的化合物，以上步骤可用图 6-l 表示。

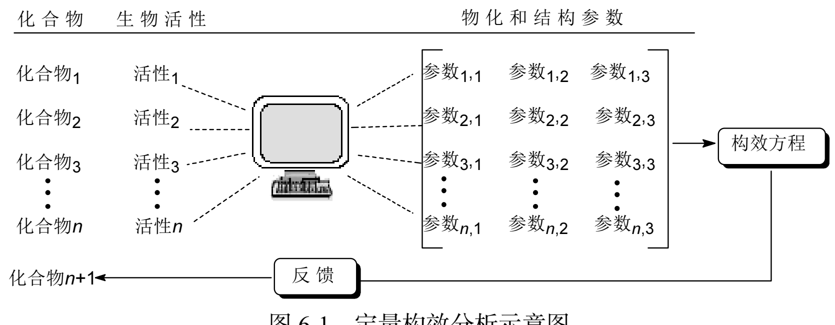


图 6-1　定量构效分析示意图

在一定意义上讲，定量构效关系，特别是线性自由能相关分析法，是用最少的合成和生物测定的代价，获得最大限度的信息量，从有限数量化合物的结构以及物化性质变化找出生物活性变化的量变规律，得到的构效方程.可

预示未来合成的化合物活性，指示高活性化合物的结构特征，并推测药物的作用机制。首批化合物的合成对于获取构效方程的成败、优劣与效率，是非常重要的。

6.2.3　首批化合物的选定

首批化合物用作建立初始的 QSAR 模型，构成训练集(training set)，通过训练集样本的数据，经统计学处理和判断，得出一个可以概括这类化合物及其活性相关性的模型，犹如在一组事物(化合物及生物系统)中抽提出某些(种)特征(物化参数)，这些(种)特征可以用来预测新的事物——新化合物的活性。所以训练集的选择对于特征的提取是非常关键的。选择时通常应注意以下几点：

(1) 结构特异性作用的化合物，应有相同或相似的基本结构，以保障诸化合物与同一个受体作用，反映出相同的结合方式。其根据是线性自由能相关分析是以药物与受体分子的物理化学作用为基础的。

(2) 化合物之间的物理化学性质或取代基团的性质要有足够大的差异，以使训练集的特征能有较广的变动范围，这对预测未知化合物的活性非常重要，因为有充分的余地进行内插和外延。例如训练集中包括含有疏水性、亲水性、推电子或拉电子、位阻大或位阻小的基团的化合物，这样得到的构效方程比只包含甲基、乙基、丙基等同系列的方程有意义。

(3) 化合物或基团的物化参数之间要呈正交性(orthogonal)。物化参数作为自变量，应具有独立的品格。为避免选出化合物的参数的共线性(colinearity)可用以下方法：将选定的化合物的取代基团的常数进行简单回归分析，相关系数应低于 0.3，即两变量间的独立性至少 72.5°(cos 72.5°= 0.3)；或用作图方法使被选定的化合物大致均匀地分布在笛卡儿坐标的 4 个象限中，例如 Craig 用芳香族的取代基电性常数σ与疏水常数π坐标系，将常见取代基定位于 4 个象限中，首批化合物宜比较均匀地散布在 4 个象限中(图 6-2)[12]。

Hansch 等用聚类分析法(cluster analysis)分析了芳香环上 166 种常用的取代基，按疏水性π、场效应 F、共振效应 R、摩尔折射 MR、氢键给体 H—D 和氢键接受体 H—A 6 种参数为变量进行分群，按照需要分成 20 群、10 群和 5 群，非芳香系的 103 种取代基以 5 种参数为变量也分成 20、l0 和 5 群。根据首批拟合成化合物的种类和数目，可在各群号中选取。所选出的取代基基本呈正交关系[13]。

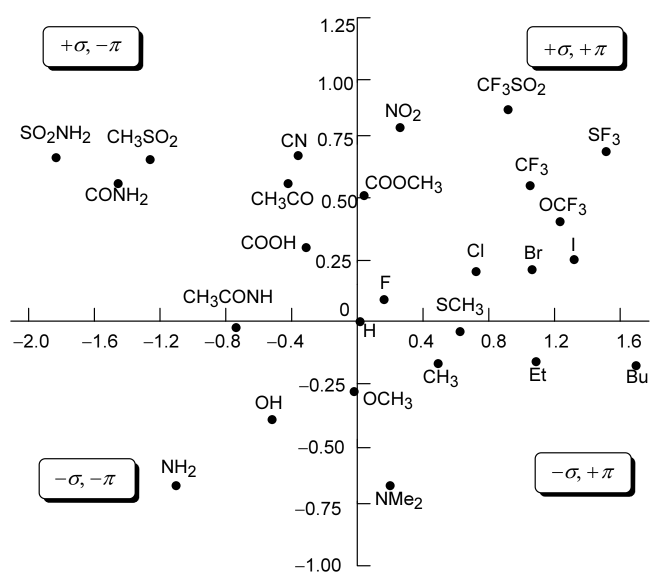


图 6-2　芳香环上取代基电性和疏水性常数的 Craig 作图

表 6-l 和表 6-2 分别是 166 种芳香环取代基和 103 种脂肪族取代基进行 10 群的聚类分析结果。低于 10 个首批化合物也可在表中选择。

表 6-1　按 10 群进行聚类分析的 166 种芳香族取代基

群号	每群数目	每 群 取 代 基
1	26	Br　Cl　I　N_3　F　SH　SF_5　CF_3　SCF_3　CF_2CF_3　H　CH_3　CH_2Br　$CHCH_2$　CH_2Cl　C≡CH　CH_2CH_3　c-C_3H_5　$CH(CH_3)_2$　C_3H_7　N=CCl_2　SCH_3　$Se(CH_3)$　$S(C_2H_5)$　SC_3H_7　$Se(C_2H_5)$
2	17	SO_2F　NO_2　$SO_2(CF_3)$　NO　CN　SO_2CH_3　5-Cl-1-tetrazolyl　SOC_3H_7　$SO_2C_2H_5$　$SO_2C_3H_7$　$CHC(CN)_2$　$PO(OCH_3)_2$　1-tetrazolyl　SOC_2H_5　$SOCH_3$　OSO_2CH_3　$OCOCH_3$
3	2	IO_2　$\overset{+}{N}(CH_3)_3$
4	8	OH　NH_2　$NHNH_2$　$NHCH_3$　$NH(C_2H_5)$　NHC_3H_7　NHC_4H_9　NHC_6H_5
5	18	$B(OH)_2$　CH_2OH　$(CH_2)_2CO_2H$　$(CH_2)_3CO_2H$　NH(OH)　$NHCONH_2$　NHCN　CHNOH　$NHCOCF_3$　NHCHO　$NHSO_2CH_3$　$NHCOCH_3$　$SO_2(NH_2)$　$CONH_2$　$CO(NHCH_3)$　$CONHC_2H_5$　CO_2H　CO_2^-
6	21	OCF_3　CH_2CN　$CHCHNO_2$　$CHNOCH_3$　$OCOC_2H_5$　CHCHCN　SCN　CO_2CH_3　COC_2H_5　CHO　$COCH_3$　$SCOCH_3$　$CO_2C_2H_5$　COC_3H_7　$SCOC_2H_5$　$CO_2C_3H_7$　CH_2OCH_3　$CH_2OC_2H_5$　$CH_2OC_3H_7$　$CH_2OC_4H_9$　$CH_2OC_6H_5$
7	25	NCS　pyrryl　$CHNOC_2H_5$　$OCOC_3H_7$　$CHNOC_3H_7$　$CHNOC_4H_9$　2,5-di-Me-Pyrryl　$CHCHOCH_3$　$CHCHCO_2CH_3$　$CHCHCOC_2H_5$　$CHCHCO_2C_2H_5$　$CHCHCOC_3H_7$　$CHCHCO_2C_3H_7$　$OCOC_6H_5$　OC_6H_5　$SCOC_3H_7$　COC_6H_5　$CO_2C_6H_5$　$OSO_2C_6H_5$　$CHCHCOC_6H_5$　2-benzthiazolyl　$PO(OC_2H_5)_2$　CH=NC_6H_5　$SO_2C_6H_5$　$PO(C_6H_5)_2$
8	20	CH_2I　2-thienyl　$Se(C_3H_7)$　3-thienyl　C_6H_5　NNC_6H_5　C≡CC_6H_5　$CHCHC_6H_5$　$Si(CH_3)_3$　C_5H_{11}　e-C_6H_{11}　$CH_2Si(CH_3)_3$　$CH_2C_6H_5$　C_4H_9　$C(CH_3)_3$　$P(CH_3)_2$　$P(C_2H_5)_2$　$CH_2Si(C_2H_5)_3$　ferrocenyl　$N(C_6H_5)_2$

续表

群号	每群数目	每　群　取　代　基
9	21	$NHCS(NH_2)$　$CHNNHCONHNH_2$　$CHNNHCS(NH_2)$　$CONHC_3H_7$　$NHCS(NHC_2H_5)$　$NHCO(CH_2Cl)$　$NHCOC_2H_5$　$NHCS(CH_3)$　$NHSO_2C_2H_5$　$NHCO_2CH_3$　$NHCO_2C_2H_5$　$NHCOCH(CH_3)_2$　$NHCO_2C_3H_7$　$NHCS(C_2H_5)$　$NHSO_2C_3H_7$　$NHCOC_3H_7$　$C(OH)(CF_3)_2$　$NHCS(C_3H_7)$　$NHSO_2C_6H_5$　$NHCOC_6H_5$　$CHNNHCOC_6H_5$
10	8	OCH_3　OC_2H_5　$OCH(CH_3)_2$　OC_3H_7　OC_4H_9　$N(CH_3)_2$　$N(C_2H_5)_2$　$NCHC_6H_5$

表 6-2　按 10 群进行聚类分析的 103 个脂肪族取代基

群号	每群数目	每　群　取　代　基
1	6	Br　Cl　CF_3　F　I　C_2F_5
2	27	NO_2　CN　$SOCH_3$　SOC_2H_5　COC_3H_7　SCN　CO_2CH_3　$OCOCH_3$　$CHCHNO_2$　COC_2H_5　CHCHCN　OSO_2CH_3　OCH_3 $COCH_3$　CH_2CN　OCH_2CH_3　$CO_2C_2H_5$　$OCH(CH_3)_2$　$CHCHCOCH_3$ COC_3H_7　OC_3H_7　$OCOC_2H_5$　$OCOC_3H_7$　$CHCHCO_2CH_3$　OC_4H_9　$CO_2C_3H_7$　$CHCHCOC_2H_5$
3	20	H　CH_3　CH_2Br　CH_2Cl　$CHCH_2$　SCH_3　C_2H_5　c-C_3H_5　$CH(CH_3)_2$　C_3H_7　C_4H_9　$C(CH_3)_3$　CBr_3　CCl_3　$S(C_2H_5)$　SC_3H_7　CH_2I　2-Thienyl　C_6H_5　3-Thienyl
4	11	OH　CO_2H　CHNOH　$CONH_2$　$NHCOCH_3$　$CO(NHCH_3)$　$NHCO_2C_2H_5$　$CONHC_2H_5$　$NHCOC_2H_5$　$NHCOC_3H_7$　$CONHC_3H_7$
5	2	SH　C≡CH
6	11	NH_2　CH_2OH　$NHCH_3$　$NH(C_2H_5)$　$NHCONH_2$　$(CH_2)_2CO_2H$　NHC_3H_7　$(CH_2)_3CO_2H$　NHC_4H_9　NHC_6H_5　$NHCOC_6H_5$
7	7	CH_2OCH_3　$CH_2OC_2H_5$　$N(CH_3)_2$　$CH_2OC_3H_7$　$N(C_2H_3)_2$　$CH_2OC_4H_9$　$CH_2OC_6H_5$
8	7	$CH_2Si(CH_3)_3$　$Si(CH_3)_3$　C_5H_{11}　$CH_2C_6H_5$　$CHCHC_6H_5$　$CH_2Si(C_2H_5)_3$　ferrocenyl
9	11	$CHCHCO_2C_2H_5$　$CHCHCO_2C_3H_6$　$OCOC_6H_5$　OC_6H_5　$CHCHCOC_3H_2$　COC_6H_5　$CO_2C_6H_5$　$SO_2C_6H_5$　2-benzthiazolyl　$CHCHCOC_6H_5$　$N(C_6H_5)_2$
10	1	CO_2^-

上述的方法旨在保障各取代基团各自对活性贡献的独立性(即正交性)。在保障正交性的基础上，要根据药物化学的经验规律和一般原理加以选择。

(4) 生物活性强度的变异要足够大。优良的构效方程，往往有较广幅的活性变差。化合物的活性有一个或数个数量级的差别(1 或数个对数单位)对于定量构效分析是很必要的。

(5) 首批化合物的数量 n 与变量数 m 应有适当的比例。为保障构效方程的统计学显著性，化合物的数目应至少是结构参数的 4 倍，即 $n \geqslant 4m$。

6.2.4　生物学参数的表示法

假如生物测定的方法是用固定剂量或浓度的药物进行体内或体外试验，观察效应的强度，则式(6-8)和(6-9)可分别改写成式(6-16)和(6-17)：

$$\lg 效应 = \lg k + 常数C \tag{6-16}$$

$$\lg 效应 = \lg K + 常数C \tag{6-17}$$

式(6-10)和(6-11)是以达到固定的效应进行试验，比较剂量或浓度的大小。这是两种不同的试验和表示方法，前者为固定剂量，比较效应(dose-fixed response，DFR)，后者是固定效应，比较剂量(response-fixed dose，RFD)。这是定量构效关系中表达生物活性的两种方法。显然DFR方法比较简便，所用的药物量和生物材料较少，但准确度差；RFD方法则比较复杂，为了得到诸如ED_{50}、IC_{50}等生物数据，用药量和生物材料较多，但比较准确，再现性较好。这可以从剂量-效应曲线清楚地看出。图6-3是药物D_1和D_2的量效曲线，在半对数坐标上的作图。

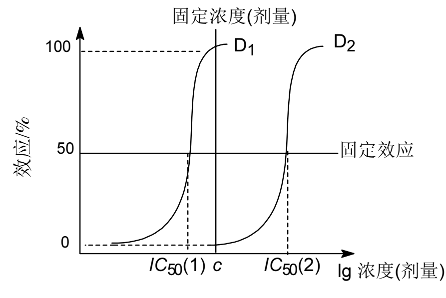


图6-3　剂量-效应曲线图

D_1和D_2的剂量-效应关系呈拉长的S形曲线，相互平行表明两种药物的作用机制是相同的。D_1的活性强于D_2。为得到这两条曲线，每个药物需用数个不同的剂量(或浓度)组，测定相应的生物效应。显然，用固定效应的方法较好地测定了D_1和D_2的活性强度，例如IC_{50}分别为IC_1和IC_2；但若用固定剂量的方法如D_1和D_2都给以c剂量，D_1为100%效应而D_2近于0效应，未能定量和准确地评价两者的活性差异。定量构效分析中大多使用RFD法表示活性，而且用摩尔浓度或质量摩尔浓度表示，以便在不同化合物之间有可比性。用DFR方法得到的效应的百分数可用线性变换模型表示生物活性：

$$生物活性 = \left(\frac{MW}{d}\right) \cdot \lg\left(\frac{p}{1-p}\right) \tag{6-18}$$

式中，MW为药物的分子量；d为剂量；p是效应的百分数。这种变换可使药物之间的活性有可比性。

6.3　物化参数的表示法

6.3.1　电性参数

线性自由能相关分析中，取代基的电性效应对生物活性的影响，可用有机化学的 Hammett 取代基σ常数或相类似的常数表征。Hammett 取代基σ常数可定量地描述化合物的取代基推拉电子作用对反应速率或化学平衡的影响。有机化学家出身的Hansch首先将Hammett取代基σ常数移植到处理化学结构与生物活性之间的定量关系。

6.3.1.1　Hammett σ常数

Hammett 用两个参数σ和ρ描述化学结构与反应速率常数或平衡常数的相关关系。σ是基团对苯环上取代基的吸引或排斥电子的能力的量度，表征取代基通过诱导效应和共轭效应对苯环上间位或对位电性的影响程度。Hammett 方程用式(6-19)或(6-20)分别表示反应速率或平衡反应与取代基的电性强度的关系[14]：

$$\lg\frac{k}{k_0}=\rho\sigma \tag{6-19}$$

$$\lg\frac{K}{K_0}=\rho\sigma \tag{6-20}$$

式中，k 和 k_0 分别代表有取代的化合物和母体(即未取代的)化合物的反应速率常数；K 和 K_0 分别代表有取代的化合物和母体化合物的反应平衡常数。

σ值是由测定苯甲酸和取代的苯甲酸在 25%丙酮水溶液中的离解常数 K_H 和 K_X 按下式求出的：

$$\sigma=\lg\frac{K_X}{K_H} \tag{6-21}$$

显然，在该条件下的离解反应的ρ值为 1。

表 6-3 列出某些有机反应的反应常数ρ值，可作为药物在体内的某些化学或生物转化过程的参考。

表 6-3　一些有机反应的反应常数 ρ 值

反应	溶剂	温度	ρ值
1. 苯甲酸类离解作用	水	25℃(平衡)	1.000
2. 苯甲酸类离解作用	乙醇	25℃(平衡)	1.957
3. 酚类离解作用	水	25℃(平衡)	2.113
4. 苯胺类离子的酸性	水	25℃(平衡)	2.767
5. 苯甲醛类与 HCN 的加成反应	乙醇	20℃(平衡)	1.492
6. 氯化三芳甲烷类的离解作用	SO_2 中	0℃(平衡)	−3.974
7. 苯甲酸甲酯类的碱水解作用	60%丙酮	0℃(速率)	2.460
8. 苯甲酸乙酯类的酸水解作用	60%乙醇	100℃(速率)	0.114
9. 氯苄类的水解作用	50%丙酮	60℃(速率)	−1.688
10. 芳胺类的苯甲酰化作用	苯	25℃(速率)	−2.781
11. 取代的偶氮苯类的顺-反异构化	苯	25℃(速率)	−0.610
12. 硝基苯类被氯化亚锡还原反应	水	90℃(速率)	1.149
13. 苯甲醛类与 HCN 的加成反应	乙醇	20℃(速率)	2.329
14. 苯乙酮类侧链的溴化作用	水	25℃(速率)	0.417
15. 取代的过氧化苯甲酰的分解作用	苯乙酮	80℃(速率)	0.374

σ常数的大小与取代基同反应中心的相对位置有关。间位取代无共轭效应，只有诱导效应，对位取代包含有共轭和诱导两种效应，因此间位取代基电性常数σ_m与对位的σ_p不同。邻位取代基除电性效应外，仍有邻位基团效应如位阻和(或)氢键的作用，在定量构效分析时，邻位取代需作特殊处理。表 6-4 列出了常见的取代基σ_p常数。表 6-5 中列出的带电荷的 $N^+(CH_3)_3$ 和 COO^-的σ值，它们难于同中性取代基共同适于定量的相关分析，往往需引入指示变量加以调整。关于指示变量将于后面讨论。

σ值虽出自于苯环系列，但也适用于其他芳环和芳杂环系统。

表 6-4　一些取代基的电性常数

取代基	σ_p	σ_p^-	σ_p^+	σ_p^0
$N(CH_3)_2$	−0.83	−0.12	−1.70	−0.48
NH_2	−0.66	−0.15	−1.31	−0.36
OH	−0.37	−0.16	−0.92	−0.16
OCH_3	−0.27	−0.16	−0.78	−0.10
$C(CH_3)_3$	−0.20	−0.13	−0.26	−0.17

续表

取代基	σ_p	σ_p^-	σ_p^+	σ_p^0
CH_3	−0.17	−0.15	−0.31	−0.12
$CH(CH_3)_2$	−0.15	−0.15	−0.28	−0.16
OC_6H_5	−0.03	−0.03	−0.50	0.07
C_6H_5	−0.01	0.10	−0.18	0.04
SCH_3	0.00	0.17	−0.54	0.08
$NHCOCH_3$	0.00	0.00	−0.60	0.03
H	0.00	0.00	0.00	0.00
F	0.06	0.05	−0.08	0.21
Cl	0.23	0.27	0.11	0.28
Br	0.23	0.28	0.15	0.30
I	0.18	0.30	0.13	0.27
$CONH_2$	0.36	0.36	—	—
OCF_3	0.35	0.35	—	—
CHO	0.42	0.47	—	0.47
COOR	0.45	0.46	0.49	0.46
$SOCH_3$	0.49	0.62	—	0.57
$COCH_3$	0.50	0.87	—	0.50
CF_3	0.54	0.65	0.61	0.54
SO_2NH_2	0.57	0.94	—	0.58
CN	0.66	1.00	0.66	0.65
SO_2CH_3	0.72	0.98	—	0.73
NO_2	0.78	1.24	0.79	0.81
SO_2CF_3	0.93	1.36	—	—

6.3.1.2　通路共轭

当取代基直接同反应中心共轭时，用 Hammett σ常数有时不能说明电性效应与化学行为或生物活性的关系，这是因为取代基与反应中心产生了通路共轭(through resonance)[15]。

这种相互作用对过渡态的生成有很强的促进或阻断作用，这在苯酚系列中是常见的情况。苯酚类化合物的离解常数与间位取代基的σ_m常数有良好的相关性，但对位取代的苯酚的离解常数与σ_p相关性很差，这是因为当酚基对位有强吸电子基团时，酚基离解生成的负电荷被吸电子基团稳定，因而这类酚的酸性比由

Hammett 方程用的σ_p常数所预测的酸性强。例如对硝基酚有如下的共振式，使酚负离子趋于稳定化。

然而，苯甲酸系列不存在这种通路共轭现象。例如对硝基苯甲酸的离解作用，产生的负电荷不能分散到硝基上，因为很难产生如下的共振式：

其他吸电子基团如 CN、SO_2NH_2等处在反应过渡态生成的负离子的对位时，也有通路共轭效应。除苯酚外，苯胺类和含有未偶孤电子对的原子或基团，与可以接受这对电子的基团呈共轭体系时，都会因通路共轭效应使吸电子基团的能力有放大效应，这时的σ值(σ_p^-)比相应的σ_p 值大。未处于共轭位置的取代基，如间位吸电子基团，没有这种通路共轭作用，因而$\sigma_m^- \cong \sigma_m$。表 6-4 列出了一些取代基的$\sigma_p^-$和$\sigma_p$值，可以看出，强吸电子基团的$\sigma_p^-$比$\sigma_p$值大。

若反应中心的过渡态产生正离子，在其对位有推电子基团存在时，则也会因通路共轭使正电荷稳定，引起σ_p 的增大，即$\sigma_p^+ > \sigma_p$(指绝对值)。σ_p^+值是由取代的氯代异丙苯在 90%丙酮中的溶剂解作用测定求出的。

例如，R=OCH_3 时，正电荷离域到甲氧基上，因而对溶剂解作用有很大促进作用。一些基团的σ_p^+值也列于表 6-4 中，可以看出表的上半部的推电子基团的$\sigma_p^+ > \sigma_p$，下半部的吸电子基团的$\sigma_p^+ \cong \sigma_p$。显然$\sigma_m^+$与$\sigma_m$ 相同。

如果反应中心与取代基被饱和碳原子例如-CH_2-基隔断了共轭作用，例如取代的苯乙酸发生离解作用时，取代基电性常数与上述的σ，σ^+和σ^-不同，所谓正规化常数σ^0 完全没有通路共轭效应，表 6-4 中的σ^0 值表明吸电子基团$\sigma_p^0 \cong \sigma_p$，而只有强推电子基团如 NH_2 或 OH 的σ_p^0 与σ_p 有较大的差别。

6.3.1.3　脂肪族的取代基电性常数

(1) σ^*常数：脂肪族系列的取代基对反应中心的电性效应，是诱导效应所致。Taft 用σ^*定义了这类取代基常数[16]。

$$\sigma^* = \frac{1}{2.48}\left[\lg(\frac{k_X}{k_H})_B - \lg(\frac{k_X}{k_H})_A\right] \tag{6-22}$$

式中，k_H 和 k_X 分别代表乙酸酯和取代的乙酸酯的水解速率常数；B 和 A 分别表示在碱性和酸性条件下的水解作用。在碱性水解时，反应速率取决于取代基 X 的诱导效应和立体因素，形成过渡态的速率，是由 OH^-进攻酯羰基难易所决定，X 的电性和空间因素影响这种亲核进攻；

碱性水解的过渡态　　酸性水解的过渡态

在酸性介质中水解时，反应速率只取决于取代基 X 的立体因素，形成过渡态的速率是由水分子进攻质子化的羰基碳难易所决定，由于酯已带有正电荷，X 基团对羰基碳的电性影响已微不足道，这时显示的基团作用只有立体因素。因此，在碱性和酸性条件下水解速率之差别是取代基 X 的诱导效应。系数 1/2.48 是为了使σ^*同 Hammett σ值有相近的尺度。常见的取代基电性常数σ^*列于表 6-5 内，吸电子基团σ^*为正值，推电子基团为负值，氢原子为零。

(2) σ_I常数：是描述脂肪族系列的另一种电性参数，称作极性常数σ_I，是 Charton 由取代的乙酸的离解常数推算出来的。但某些可形成氢键的取代基不能反映出真实的极性效应，用来定义σ_I比较理想的模式化合物是 4-取代-双环[2,2,2]辛烷-1-羧酸的离解常数[17]。

4-取代-双环[2,2,2]辛烷-1-羧酸

该化合物将取代基与羧基完全分开，排除了共轭效应的影响，因此离解常数的变化反映了取代基的纯诱导效应：

$$\sigma_I = \frac{1}{1.56}(\lg K_X - \lg K_H) \tag{6-23}$$

式中，K_H 和 K_X 分别是有取代的和无取代的双环[2,2,2]辛烷-1-羧酸在 50%乙醇-水

溶液中离解常数，1.56 为校正系数，使σ_I与 Hammett σ常数有相近的尺度。由于 Hammett σ包含有诱导和共轭两种效应，σ_I是单纯的诱导效应，由式(6-24)可计算出取代基的共轭效应σ_R[18]：

$$\sigma_R = \sigma_P - \sigma_I \tag{6-24}$$

表 6-5 常用取代基的各种电性常数

No.	取代基	σ_m	σ_p	σ_p^+	σ_p^-	σ_p^0	σ_I	$\mathscr{F}$	$\mathscr{R}$	芳香族 p(Debye)	脂肪族 μ(Debye)
1	Br	0.39	0.23	0.15		0.30	0.46	0.44	−0.17	−1.57	−1.97
2	CF_3	0.43	0.54		0.68	[0.53]	0.42	0.38	0.19	−2.61	−1.94
3	CN	0.56	0.66		0.96	0.71	0.57	0.51	0.19	−4.08	−3.63
4	COO^-	−0.10	0.00		0.30	[−0.14]	−0.17	−0.15	0.13		
5	CHO	0.35	0.42		1.02	[0.47]	[0.25]	0.31	0.13	−3.02	−2.58
6	CO_2H	0.37	0.45		0.78	[0.44]	[0.32]	0.33	0.15	−1.30	−1.65
7	CH_2Cl	0.10	0.12	[−0.01]			0.15	0.10	0.03	−1.83	−1.93
8	$CONH_2$	0.28	0.36		0.62		0.27	0.24	0.14	−3.42	−3.37
9	CH_3	−0.07	−0.17	−0.31		−0.12	−0.04	−0.04	−0.13	0.36	0.00
10	CH_2OH	0.00	0.00	[0.01]			0.05	0.00	0.00	1.73	
11	C≡CH	0.21	0.23	0.18	[0.52]	[0.22]	0.35	0.19	0.05	−0.77	−0.78
12	CH_2CN	0.16	0.01	[0.12]		[0.18]	0.18	0.21	−0.18	−3.60	
13	$CH{=}CH_2$	0.05	−0.02			[−0.01]	0.09	0.07	−0.08	0.20	−0.40
14	$COCH_3$	0.38	0.50		0.83	[0.47]	0.29	0.32	0.20	−2.90	−2.77
15	CO_2CH_3	0.37	0.45		0.69	[0.44]	0.34	0.33	0.15	−1.92	−1.75
16	CH_2CH_3	−0.07	−0.15	−0.30		−0.13	−0.03	−0.05	−0.10	0.39	0.00
17	c-C_3H_5	−0.07	−0.13	−0.44	−0.08	[−0.22]	0.01	−0.06	−0.08	0.51	−0.14
18	$(CH_2)_2CH_3$	−0.07	−0.13				−0.02	−0.06	−0.08		0.08
19	$CH(CH_3)_2$	−0.07	−0.15	−0.28		−0.15	−0.03	−0.05	−0.10	0.40	0.08
20	2-thienyl	0.09	0.05	−0.33	0.19		[0.21]	0.10	0.04	0.81	
21	$(CH_2)_3CH_3$	−0.08	−0.16			−0.16	−0.04	−0.06	−0.11		0.08
22	$C(CH_3)_3$	−0.10	−0.20	−0.26		−0.17	−0.07	−0.07	−0.13	0.52	
23	C_6F_5	0.34	0.41	[0.26]		[0.27]	0.31	0.30	0.13		
24	C_6H_5	0.06	−0.01	−0.21	0.09	0.04	0.12	0.08	−0.08	0.00	−0.38
25	2-benzoxazolyl	0.30	0.33		0.68			0.28	0.07	−1.22	
26	2-benzothiazolyl	0.27	0.29		0.65			0.25	0.06	−0.94	
27	COC_6H_5	0.34	0.43		0.88	[0.46]	[0.27]	0.30	0.16	−3.04	−2.90

续表

No.	取代基	σ_m	σ_p	σ_p^+	σ_p^-	σ_p^0	σ_I	$\mathscr{F}$	$\mathscr{R}$	芳香族 p(Debye)	脂肪族 μ(Debye)
28	$CH_2C_6H_5$	−0.08	−0.09	−0.25		[−0.06]	0.03	−0.08	−0.01	0.36	−0.39
29	ferrocenyl	−0.15	−0.18	−0.70	−0.04			−0.15	−0.04		
30	adamantly	−0.12	−0.13	−0.27		[−0.13]		−0.12	−0.02		
31	Cl	0.37	0.23	0.11		0.28	0.47	0.41	−0.15	−1.59	−1.93
32	F	0.34	0.06	−0.07		0.20	0.54	0.43	0.34	1.43	−1.90
33	H	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	
34	I	0.35	0.18	0.13		[0.27]	0.39	0.40	−0.19	−1.36	−1.79
35	IO_2	0.68	0.78					0.63	0.20		
36	NO_2	0.71	0.78		1.25	0.82	0.76	0.67	0.16	−4.13	−3.59
37	N_2^+	1.76	1.91		3.24	[2.18]		1.69	0.36		
38	N_3	0.27	0.15		[0.08]		0.42	0.30	−013	−1.56	−2.17
39	NH_2	−0.16	−0.66	[−1.36]		[−0.30]	[0.12]	0.02	−0.68	1.53	−1.35
40	NH_3^+	0.86	0.60		[0.56]		0.60	0.94	−0.27		
41	NCO	0.27	0.19			[0.19]	[0.36]	0.23	−0.08	−3.93	−2.81
42	NCS	0.48	0.38		[0.34]	[0.35]	[0.42]	0.29	−0.09	−2.91	
43	1-tetrazoyl	0.52	0.50		[0.57]		[0.54]	0.50	0.02		
44	$NHCONH_2$	−0.03	−0.24				0.21	0.04	−0.28		
45	$NHCSNH_2$	0.22	0.16			[0.16]	[0.29]	0.23	−0.05	−5.16	−016
46	$NHCH_3$	−0.30	−0.84			[−0.46]	[0.18]	−0.11	−0.74	1.69	−1.01
47	$N(CF_3)_2$	0.40	0.53				[0.49]	0.34	0.22		
48	$NHCOCH_3$	0.21	0.00	[−0.65]		[0.14]	0.26	0.28	−0.26	−3.65	−3.81
49	$N(CH_3)_2$	−0.15	−0.83	[−1.62]		[−0.32]	[0.06]	0.10	−0.92	1.61	−1.26
50	$N^+(CH_3)_3$	0.88	0.82			[0.88]	0.73	0.89	0.00		
51	$N{=}NC_6H_5$	0.32	0.39	[−0.15]	0.65		[0.19]	0.28	0.13		
52	O^-	−0.47	−0.81	[−2.30]		[−0.77]	[−0.16]	−0.35	−0.49		
53	OH	0.12	−0.37	[−0.92]		[−0.12]	0.22	0.29	−0.64	−1.59	−1.66
54	OCF_3	0.38	0.35					[0.55]	0.38	0.00	−2.36
55	OCH_3	0.12	−0.27	−0.78		−0.15	0.29	0.26	−0.51	−1.30	−1.27
56	$OCOCH_3$	0.39	0.31				[0.36]	0.41	−0.07	−1.72	−1.81
57	OCH_2CH_3	0.10	−0.24	[−0.82]		−0.14	0.27	0.22	−0.44	−1.38	−1.27
58	OC_6H_5	0.25	−0.03	[−0.52]		−0.05	0.42	0.34	−0.35	1.16	−1.38
59	$PO(OCH_3)_2$	0.42	0.83	[0.54]	0.80	[0.43]	[0.24]	0.37	0.19		
60	SO_2F	0.80	0.91		[1.32]		[0.75]	0.75	0.22	−4.59	−3.39

续表

No.	取代基	σ_m	σ_p	σ_p^+	σ_p^-	σ_p^0	σ_I	$\mathscr{F}$	$\mathscr{R}$	芳香族 p(Debye)	脂肪族 μ(Debye)
61	SF_5	0.61	0.68		0.77		0.57	0.57	0.15	−3.44	
62	SO_3^-	0.05	0.09		0.52	[0.30]	0.13	0.03	0.07		
63	SH	0.25	0.15			[0.06]	0.26	0.28	−0.11	−1.33	−1.51
64	SO_2NH_2	0.46	0.57		0.92	[0.58]	[0.44]	0.41	0.19		−4.60
65	$SOCF_3$	0.63	0.69				0.69	0.60	0.14		
66	SO_2CF_3	0.79	0.93		1.49		0.72	0.73	0.26		
67	SCF_3	0.40	0.50		0.61		0.44	0.35	0.18	−2.50	
68	SCN	0.41	0.52		0.60	[0.58]	0.58	0.36	0.19	−3.01	−3.89
69	$SOCH_3$	0.52	0.49		0.73	0.57	[0.50]	0.52	0.01	−3.98	−3.88
70	SO_2CH_3	0.60	0.72		1.05	0.75	0.59	0.54	0.22	−4.75	−4.26
71	SCH_3	0.15	0.00	−0.60	[0.13]	0.05	0.25	0.20	−0.18	−1.34	−1.45
72	$S(CH_3)_2^+$	1.00	0.90		1.16	[1.06]	[0.89]	1.02	−0.04		
73	$SeCF_3$	0.32	0.38					[0.42]	0.29	0.12	−2.48
74	$Si(CH_3)_3$	−0.04	−0.07	0.02	0.08			−0.13	−0.04	−0.04	

6.3.1.4　Swain $\mathscr{F}$ 和 $\mathscr{R}$ 常数

为了进一步区分诱导效应和共振效应，Swain 提出了诱导电性效应或称场效应 $\mathscr{F}$ 和共振电性效应 $\mathscr{R}$ [19]。

为推导 $\mathscr{F}$ 和 $\mathscr{R}$ 值，Swain 提出两个前提：①当取代基与反应中心被 3 个以上的饱和碳分隔开时，$\mathscr{F}$ 效应可忽略不计；②取代基为 NR_3^+ 时没有 $\mathscr{R}$ 效应，从而提出如下的关系式：

$$\sigma = f\mathscr{F} + r\mathscr{R} \tag{6-25}$$

式中，f 和 r 分别是场效应 $\mathscr{F}$ 和共振效应 $\mathscr{R}$ 的权重，根据上面两个假设条件，由双环[2,2,2]辛烷-1-羧酸的离解常数和 Hammett σ_p 值求出 f 值为 0.56，但 Hansch 等由 191 个取代基得出如下的关系式：

$$\mathscr{R} = \sigma_p - 0.9215\mathscr{F} \tag{6-26}$$

取代基的 $\mathscr{F}$ 和 $\mathscr{R}$ 值列于表 6-5 内。

6.3.1.5　偶极矩

前面讨论的各种电性参数，是取代基对分子内反应中心电性影响的量度，以此可描述基团的静电性对药物与受体相互作用的影响，这是一种间接的量度。用分子偶极矩描述药物与受体分子间的电性作用，是种直接的作用。而且由于偶极矩是向量，具有方向性，用作定量构效分析的电性参数有时可得到较好的结果。化合物的偶极矩的实验测定较复杂，笔者与 Lien 等将 300 个单取代苯的实验偶极矩值作为该取代基团的基团偶极矩，并基于对苯环推拉电子的方向，赋予该值为向量[20]。

应当指出，基团偶极矩与 Hammett σ_p 或σ_m 常数相关性很弱，可能是测量方法不同的缘故，如式(6-27)和(6-28)所示：

$$\mu = 15.99\sigma_m - 0.53$$

$$n = 114,\ r = 0.749,\ s = 1.279$$

$$\mu = -3.65\sigma_p - 1.27 \tag{6-27}$$

$$n = 114,\ r = 0.706,\ s = 1.367 \tag{6-28}$$

脂肪族取代基偶极矩与 Taft σ^*常数间的相关性也很差[21]。

6.3.1.6　表征电性的其他参数

(1) 离解常数：离解常数是化合物固有的热力学特征值。化合物的离解常数可用来表征电性效应。如果生物活性与电性效应的关系能用离解常数说明，则测定活性时的 pH 是个重要因素，此时，测定的生物活性(用浓度表示)与 pH、pK_a 的关系如式(6-29)和(6-30)：

$$\lg(1/cf_i) = \lg(1/c) + \lg[(K_a + [H^+])/K_a] \tag{6-29}$$

$$\lg(1/cf_u) = \lg(1/c) + \lg[(K_a + [H^+])/[H^+]] \tag{6-30}$$

f_i 和 f_u 分别是在该 pH 条件下药物分子离解和未离解的分数，由于 $f_i+f_u = 1$，故方程(6-29)和(6-30)是相关的两个表达式，引起生物活性究竟是中性分子还是离解型化合物，需用其他方法证明。

(2) NMR 参数：^{1}H 或 ^{13}C 核磁共振谱的某特定信号的化学位移往往与取代基电性常数有良好的相关性，同系列化合物 ^{1}H 的化学位移与同该氢相连的碳原子的电荷密度相关，电荷密度高，氢被屏蔽作用强，化学位移处于高场。^{13}C 的化学位

移也与自身的电荷密度有关。因此，作为实验数据用来表征电性效应与生物活性的关系，常收到良好的结果。

(3) 红外光谱参数：红外吸收光谱的基团吸收谱线的频率也可以作为电性参数的量度。例如系列化合物的羰基、羟基或氰基的特征吸收峰波数可作于定量构效关系研究中的参数。

(4) 其他：氧化-还原半波电位，紫外吸收谱的 λ_{max}、摩尔折射以及量子化学计算的最高占据轨道能(HOMO)和最低空轨道能(LUMO)等实验数据或理论计算数据，都可以作为分子的电性参数用于定量构效关系的分析。

6.3.2 疏水参数

6.3.2.1 原理

在第 3 章已讨论了疏水相互作用的形成过程和基本原理。研究线性自由能相关分析的疏水作用，常使用的参数是分配系数(partition coefficient，lg P)，P 是处于热力学平衡状态时化合物在不相混溶的两溶剂中浓度的比值，最常用的溶剂系统是正辛醇和水(可离解性化合物用缓冲液)，用式(6-31)表示。

$$\lg P = \lg\left(\frac{c_o}{c_w}\right) \tag{6-31}$$

式中，c_o 和 c_w 是处于平衡状态下化合物在正辛醇和水中的浓度。lg P 的经典测定方法为摇瓶法[22] (flask shaking method)。高通量测定的方法有三种：微量化的 96 孔板摇瓶法[23]；反向高效液相色谱法[24]；毛细管电泳法[25]。在实际测定中常常会遇到不少问题，化合物的极性过强或亲脂性过高(1g P >4)时测定误差较大，样品中少量的杂质就会影响结果，而且溶质的浓度不宜高，以防止溶质分子间的缔合。此外，离解性化合物的水相应使用缓冲液，缓冲液的离子不应分配到正辛醇中。

在 QSAR 方程中出现的 lg P 项，特别是体内实验的数据，往往包含着两层含义：化合物向作用部位的转运过程和与受体的疏水结合作用。

药物分子到达作用部位一般是随机转运过程，在一定时间内到达作用部位的概率 A 与化合物的 lg P 呈高斯正态分布：

$$A = a' \exp[-(\lg P - \lg P_{opt})^2 / b'] \tag{6-32}$$

P_{opt} 为最适分配系数，对特定的系统和化合物为一常数。式(6-32)取对数后得：

$$\lg A = a(\lg P)^2 + b\lg P + \text{常数 } C \tag{6-33}$$

式(6-32)和(6-33)中 $a(\leqslant 0)$、b、a'和 b'为回归系数，呈抛物线形方程(parabolic equation)。其含义是在其他条件不变的情况下，同源物(congeners)在转运过程和与受体相互作用等阶段所决定的总速率或总平衡常数，与化合物的分配系数呈抛物线的变化关系。分配系数较小的化合物，生物活性随分配系数增大而增强，达到最大生物活性后，随分配系数增大活性降低，以 lg P 为横坐标，活性 lg $1/c$ 为纵坐标，作图为一抛物线，如图 6-4 所示。相应于活性最大值的分配系数称作最适分配系数 lg P_{opt}，其数值为 $b/2a$。

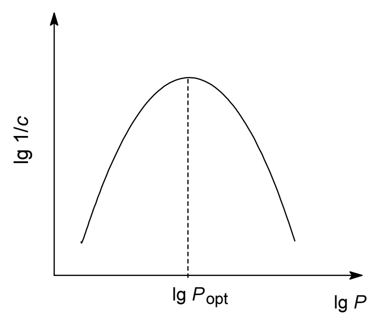


图 6-4　生物活性与分配系数的抛物线关系

6.3.2.2　取代基疏水常数

分配系数 lg P 是整体分子的疏水性质的量度，在对同源物的疏水性进行比较时，可将分子的相同结构部分的疏水贡献视作恒定值，因此在定量构效分析时，可以只考察各个取代基的相对疏水性。事实上某些生物系统与药物分子的疏水相互作用，只有某个位置上的取代基参与作用。因此，取代基的疏水常数对于解析药物分子局部疏水作用以及预测未知化合物的活性是有非常重要的，也是很方便的。

藤田等首先用类似于 Hammett σ 常数的表示法，用 π 定义取代基疏水常数[26]。

$$\pi_X = \lg P_X - \lg P_H \tag{6-34}$$

式中，lg P_H 是未取代的母体化合物的分配系数，lg P_X 为被 X 取代的化合物的分配系数。例如 $\pi_{Cl}=\lg P_{C_6H_5Cl}-\lg P_{C_6H_6}$；$\pi_{Cl}=2.84-2.13=0.71$。$\pi$ 为正值意味该基团亲脂性强；负值则亲水性强，氢原子的 π 值为零。

π 值随化合物的不同而有所改变，表 6-6 列出某些基团在不同系列化合物中的疏水值。

表 6-6　基团在不同化合物系列的疏水常数的比较

X	X—苯	X—苯—OCH_2COOH	X—苯—NO_2	X—苯—OH
H	0.00	0.00	0.00	0.00
CH_3	0.56	0.52	0.52	0.49
F	0.14	0.15	—	0.31
Cl	0.71	0.78	0.54	0.93
OH	−0.67	−0.61	0.11	−0.87
OCH_3	−0.02	−0.04	0.18	−0.12
NH_2	−1.23	—	−0.46	−1.63
NO_2	−0.28	0.24	−0.39	0.50
CN	−0.57	−0.32	−0.66	0.14

由表中可以看出惰性基团如甲基的π值在四类化合物的变化较小；卤素在推电子或拉电子基团存在时，π值变化较大；而具有孤电子对的基团，如 OH，OCH_3 或 NH_2，其π值与存在的其他基团关系很大，第二个基团是强拉电子基团如 NO_2 或 CN，使π值增高，推电子基团使π值降低。苯环及芳香体系中常见取代基的疏水常数列于表 6-7 中。

表 6-7　芳香环上基团的π值(按 C—N—O—P—S 顺序)

基团	π	基团	π	基团	π
Br	0.86	$B(OH)_2$	−0.55	SOC_2H_5	−1.04
Cl	0.71	NH_2	−1.23	SC_2H_5	1.07
HgCl	0.05	NHOH	−1.34	SeC_2H_5	1.28
F	0.14	SO_2NH_2	−1.82	NHC_2H_5	0.08
SO_2F	0.16	$NHNH_2$	−0.88	$SO_2C_2H_5$	−1.09
SF_3	1.23	$NHSO_2NH_2$	−1.73	$N(CH_3)_2$	0.18
I	1.12	5-Cl-l-四氮唑基	−0.65	$NHSO_2C_2H_5$	−0.64
IO_2	−3.46	$N{=}CCl_2$	0.41	$P(CH_3)_2$	0.44
NO	−1.20	CF_3	0.88	$P(O)(OCH_3)_2$	−1.88
NO_2	−0.28	OCF_3	1.04	$C(OH)(CF_3)_2$	1.28
NNN	0.46	$CH{=}NNHCSNH_2$	−0.27	$CH{=}CHCN$	−0.17
H	0.00	C_2H_5	1.02	环丙基	1.14
OH	−0.67	$CH{=}NNHCONHNH_2$	−1.32	COC_2H_5	0.06
SH	0.39	CH_2OCH_3	−0.78	$SCOC_2H_5$	0.64
SO_2OH	−1.86	OC_2H_5	0.38	$CO_2C_2H_5$	0.51

续表

基团	π	基团	π	基团	π
$OCOC_2H_5$	−0.10	$CONHNH_2$	−1.92	$N{=}CHC_6H_5$	−0.29
$CH_2CH_2CO_2H$	−0.29	$NHCONH_2$	−1.30	$CH{=}NC_6H_5$	−0.29
$NHCO_2C_2H_5$	0.17	$NHCSNH_2$	−1.40	$NHCOC_6H_5$	0.49
$CONHC_2H_5$	−0.73	OCH_3	−0.02	$CH_2C_6H_5$	2.01
$NHCOC_2H_5$	−0.43	CH_2OH	−1.03	$CH_2OC_6H_5$	1.66
SC_6H_5	2.32	$CH{=}NOC_2H_5$	0.94	$SOCH_3$	−1.58
$SO_2C_6H_5$	0.27	$NHCSC_2H_5$	0.12	SO_2CH_3	−1.63
$OSO_2C_6H_5$	0.93	$CH(CH_3)_2$	1.53	OSO_2CH_3	−0.88
NHC_6H_5	1.37	C_3H_7	1.55	SCH_3	0.61
$NHSO_2C_6H_5$	0.45	$NHCSNHC_2H_5$	−0.71	$SeCH_3$	0.74
2,5-二甲基-1-吡咯基	1.95	$OCH(CH_3)_2$	0.85	$NHCH_3$	−0.47
$CH{=}CHCOC_6H_5$	1.02	OC_3H_7	1.05	$NHSO_2CH_3$	−1.18
$CH{=}CHCO_2C_6H_5$	1.40	$CH_2OC_2H_5$	−0.24	CF_2CF_3	1.23
环己基	2.51	SOC_3H_7	−0.50	$C{\equiv}CH$	0.40
SO_2CF_3	0.55	$SO_2C_3H_7$	−0.55	$NHCOCF_3$	0.08
SCF_3	1.44	SC_3H_7	1.61	CH_2CN	−0.57
CN	−0.57	SeC_3H_7	1.82	$CH{=}CHNO_2$(反式)	0.11
NCS	1.15	NHC_3H_7	0.62	$CH{=}CH_2$	0.82
SCN	0.41	$NHSO_2C_3H_7$	−0.10	$NHC({=}O)CH_2Cl$	−0.50
CO_2^-	−4.36	$N^+(CH_3)_3$	−5.96	$HgOCOCH_3$	−1.42
1-四氢唑基	−1.04	$Si(CN_3)_3$	2.59	$COCH_3$	−0.55
NHCN	−0.26	$CH{=}C(CN)_2$	0.05	$SCOCH_3$	−0.10
CHO	−0.65	1-吡咯基	0.95	$OCOCH_3$	−0.64
CO_2H	−0.32	2-噻吩基	1.61	CO_2CH_3	−0.01
$OCH({=}O)$	−0.87	3-噻吩基	1.81	$NHCOCH_3$	−0.97
CH_2Br	0.79	$CH{=}CHCOCH_3$	−0.06	$NHCO_2CH_3$	−0.37
CH_2Cl	0.17	$CH{=}CHCO_2CH_3$	0.32	$CONHCH_3$	−1.27
CH_2I	1.50	COC_3H_7	0.53	$CH{=}NOCH_3$	0.40
NHCHO	−0.98	$SCOC_3H_7$	1.18	$NHCSCH_3$	−0.42
$CONH_2$	−1.49	$OCOC_3H_7$	1.44	$CONHNHCONH_2$	−2.63
$CH{=}NOH$	−0.38	2-苯并噻唑基	2.13	$CO_2C_3H_7$	1.07
$C({=}O)NHOH$	−1.87	COC_6H_5	1.05	$(CH_2)_3CO_2H$	0.25
$OCONH_2$	−1.05	$CO_2C_6H_5$	1.46	$CONHC_3H_7$	−0.19
CH_3	0.56	$OCOC_6H_5$	1.46	$NHCOC_3H_7$	0.11

续表

基团	π	基团	π	基团	π
$NHCOCH(CH_3)_2$	−0.18	$P(C_2H_5)_2$	1.52	OC_6H_5	2.08
$NHCO_2C_3H_7$	0.71	$PO(OC_2H_5)_2$	−0.10	$C{\equiv}CC_6H_5$	2.65
$CH{=}NOC_3H_7$	1.48	$CH_2Si(CH_3)_3$	2.00	$CH{=}NNHCOC_6H_5$	0.43
$NHCSC_3H_7$	0.66	$CH{=}CHCOC_2H_5$	0.48	$CH_2Si(C_2H_5)_3$	3.26
C_4H_9	2.13	$CH{=}CHCO_2C_2H_5$	0.86	$CH{=}CHC_6H_5$(反式)	2.68
t-C_4H_9	1.98	$CH{=}NOC_4H_9$	2.02	$CH{=}CHCOC_6H_5$	0.95
OC_4H_9	1.55	C_5H_{11}	2.67	铁茂基	2.46
$CH_2OC_3H_7$	0.30	$CH_2OC_4H_9$	0.84	$N(C_6H_5)_2$	3.61
$N(C_2H_5)_2$	1.18	苯基	1.96	$P{=}O(C_6H_5)_2$	0.70
NHC_4H_9	1.16	$N{=}NC_6H_5$	1.69		

取代基疏水常数具有加和性，用式(6-35)计算。芳香系列化合物的基团 π 值加和计算的分配系数与在正辛醇-水系统中测定值比较接近，Pomona 大学药物化学系开发了"cLOG P"软件，包括了所有片段因素常数，输入分子的连接次序后，可迅速计算出 lg P 值，并可在数据库中检索，若已测定过 lg P 值，可与实测值进行比较。

$$\lg P = \lg P_{\mathrm{H}} + \sum_{i=1}^{n} \pi_{\mathrm{X}_i} \tag{6-35}$$

6.3.2.3　片段疏水常数和 $c$lg P

分配系数 lg$P$ 和取代基疏水常数π是实验数据, 除特别指出外，是指在正辛醇-水(或缓冲液)的系统中测定的。

Rekker 用统计学方法对已知分配系数的化合物进行处理，求出组成有机分子的原子或片段的疏水贡献[27,28]，按照式(6-36)的加和模型由片段疏水常数(hydrophobic fragmental constant)计算出化合物的分配系数：

$$\lg P = \sum_{1}^{n} a_n f_n \tag{6-36}$$

式中，f_n 为具有 n 型片段的疏水常数，a_n 为片段 f_n 在结构中出现的次数。

Leo 等精确地测定了氢气、甲烷和乙烷的分配系数，提出了片段常数 f_{H}、$f_{\mathrm{CH_3}}$、$f_{\mathrm{CH_2}}$、f_{CH} 和 f_{C}，将这些参数作为计算化合物的分配系数的基础。计算方法是由

$\lg P_{H-H} = 0.45$，故 f_H=1/2×0.45 = 0.225，$\lg P_{CH_4} = 1.09$，f_{CH_3}= $\lg P_{CH_4}$–f_H =1.09–0.225 = 0.865; $\lg P_{CH_3-CH_3} = 1.81$，故 f_{CH_3}=1/2×1.81 = 0.905。将两种方法求出的 f_{CH_3} 取均值，得到 f_{CH_3}=0.89。由 f_H 和 f_{CH_3} 值可以计算 f_{CH_2}、f_{CH} 和 f_C 值分别为 0.66、0.43 和 0.20.

根据上述的片段疏水值并考虑某些影响分配平衡作用的因素(F)，Leo 等提出了计算分配系数的公式(6-37) [29]:

$$\lg P = \sum_{1}^{n} a_n f_n + \sum_{1}^{m} b_m F_m \tag{6-37}$$

根据上述原理和公式，美国 Daylignt 化学信息公司研发的 PCMODELS 软件，用以计算化合物在正辛醇-水系统中的分配系数，软件为 CLOG P-3，是将式(6-37)智能化，成为用户快速的计算界面。在计算化合物 $c\log P$ 时，将其结构用特定的 SMILES 线性化学结构字符串或化学结构连接表表征，程序直接分析亚结构片段和相关因素，迅速计算出 $c\log P$ 值、亚结构片段和校正值等。如果被计算的化合物已有 $\lg P$ 实验值，可同时给出实验数据。

6.3.2.4　疏水性的其他表示法

在药物化学实验室中可以方便地得到化合物的薄层色谱、高效液相色谱以及其他实验数据，这些可作为疏水性的参数进行定量构效关系的分析。

1. 薄层色谱法

薄层色谱通常指以吸附剂为固定相的一种液相色谱法，组分不断地被吸附剂吸附，又被流动相溶解和解吸附而向前移动。由于吸附剂对不同化合物有不同的吸附能力，流动相也有不同的解吸附能力，因此在流动相向前流动的过程中，不同的化合物移动不同的距离，表现出不同的疏水性。

当化合物的溶解性质相差较大或者水溶性太强，不适用吸附薄层时可用分配薄层色谱。分配薄层色谱的固定相是吸附在载体上的水分，化合物在流动相和固定相中的分配性质的不同，在薄层上移动的距离不同。

在薄层色谱中，化合物的移动情况用比移值(R_f)来表示，其定义是：R_f=原点至组分点中心的距离/原点至流动相前沿的距离。化合物的吸附薄层比移值与吸附系数 A 和流动相体积(V_m)以及吸附剂的量(W_a)有关：

$$R_f = \frac{V_m}{V_m + A \cdot W_a} \tag{6-38}$$

化合物的分配薄层比移值与分配系数 P 和流动相体积(V_m)以及固定相体积(V_s)有关：

$$R_f = \frac{V_m}{V_m + P \cdot V_s} \tag{6-39}$$

比移值 R_f 是化合物极性和疏水性的量度。在硅胶板上覆盖疏水相，于水／有机溶剂系统中作反相薄层色谱，得到的 R_f 值按照式(6-40)转换成 R_M 值。R_M 是化合物疏水性量度[30]。

$$R_M = \lg(\frac{1}{R_f} - 1) \tag{6-40}$$

将式(6-39)代入式(6-40)，得

$$R_M = \lg P + \lg \frac{V_s}{V_m} \tag{6-41}$$

由正辛醇-水系统测定的分配系数 P_{oct} 与 R_M 之间有如下的关系：

$$R_M = a \lg P_{oct} + b \tag{6-42}$$

实验表明 R_M 与 $\lg P$ 值有密切的相关性。

2. *反向高效液相色谱法*

反向高效液相色谱方法是在一定组成的流动相通过有固体相填装的色谱柱中，化合物在两相之间连续地吸附和解吸附，直到流出柱外的分离过程，所需的时间是一个特征参数。从注入柱内到流出柱外的时间称作保留时间(t_R)，与固定相亲和力强的化合物的 t_R 值较大，与固定相完全没有亲和力的标志物的保留时间为 t_0，化合物在固定相保持的能力用容量因子(capacity factor) k' 表示[31]：

$$k' = (t_R - t_0) / t_0 \tag{6-43}$$

用十八碳硅烷(octadecylsilane，ODS)包封硅胶粒作为固定相，测定的 k' 值与分配系数之间的相关性往往呈线性关系，如方程(6-44)所示：

$$\begin{gathered} \lg P = 1.025(\pm 0.06) \lg k' + 0.797 \\ n = 33, r = 0.987, s = 0.127 \end{gathered} \tag{6-44}$$

由保留时间 k' 值可以预测同系列化合物的分配系数。

6.3.2.5　Kubinyi 双直线模型

药物在体内的转运需经过水相-脂相多次相间的扩散，最后达到受体部位。Kubinyi 由多隔室模型出发，考察药物分子在水相-脂相-水相-……的移行，直到受体部位的概率，作出如下的推断[32]。

假定药物分子由水相 1 进入脂相 2 的速率常数为 k，进入 2 的概率为 $P_{1,2}$，由脂相 2 返回到水相 1 的速率常数为 l，概率为 $P_{2,1}$，如图 6-5 所示：

$$\underset{(水)}{\boxed{1}} \underset{l}{\overset{k}{\rightleftharpoons}} \underset{(脂)}{\boxed{2}} \underset{l}{\overset{k}{\rightleftharpoons}} \underset{(水)}{\boxed{3}} \underset{l}{\overset{k}{\rightleftharpoons}}$$

图 6-5　药物被动扩散的多隔室模型

由于 $P_{1,2}+P_{2,1}=1$，可得

$$P_{1,2}=k/(k+l) \tag{6-45}$$

$$P_{2,1}=l/(k+l) \tag{6-46}$$

分配系数 $P=k/l$，代入到式(6-45)和式(6-46)后，得

$$P_{1,2}=P/(1+P) \tag{6-47}$$

$$P_{2,1}=1/(1+P) \tag{6-48}$$

假定脂相与水相体积比为β，式(6-47)和(6-48)可写成

$$P_{1,2}=\beta P/(\beta P+1) \tag{6-49}$$

$$P_{2,1}=1/(\beta P+1) \tag{6-50}$$

若受体表面的疏水性为 P'，受体相体积与最后的水相隔室体积之比为β'(β'可能与β值不同)，则由最后的水相到受体部位结合作用的概率 $P_{n,r}$ 为：

$$P_{n,r}=\beta'P'/(\beta'P'+1) \tag{6-51}$$

由于疏水的受体部位的体积比最后的水相体积小得多，式(6-51)中的 $\beta'P'$与 1 相比可忽略不计，因而，药物由第 n 个隔室到受体处的概率 $P_{1,r}$ 为：

$$P_{1,r}=\frac{\beta^{n/2}\cdot\beta'\cdot p^{n/2}\cdot p'}{(\beta P+1)^n} \tag{6-52}$$

P 和 P'具有相关性，β，β'和 n 对于给定的生物系统是固定不变的(常数)，方程(6-52)可改写为

$$P_{1,r} = 常数 \cdot p^{n'} / (\beta P+1)^n \tag{6-53}$$

式中 n'为一常数。

根据方程(6-53)可将药物的生物活性与其疏水性的关系用双直线方程(6-54)表示：

$$\lg 1/c = a \lg P - b \lg(\beta P+1) + C \tag{6-54}$$

式(6-54)中，对 P 求一阶导数并令其等于零，可由 a、b 和β 求出最适分配系数 P_{opt}，同样可由 a，b 和 P_{opt}，求出β 值：

$$P_{opt} = \frac{a}{\beta(b-a)} \tag{6-55}$$

$$\beta = \frac{a}{P_{opt}(b-a)} \tag{6-56}$$

方程(6-54)中的 $\lg(\beta P+1)$项有如下的性质：当 $\lg P$ 值小时，$(\beta P+1)$近似于 1，则 $\lg(\beta P+1)$为零；$\lg P$ 值较大时，$(\beta P+1)$近似于βP，则 $\lg(\beta P+1)$等于 $\lg\beta P$，因而 $\lg(\beta P+1)$与 $\lg P$ 呈线性相关，该模型的上升和下降部分为直线，交界处为圆弧状。上升部分的斜率为正值，用 a 表示，下降部分的斜率为负值用$(a-b)$表示，与纵轴 $\lg 1/c$ 的截距为常数项 C，由 $\lg 1/c$ 轴到 $\lg P_{opt}$ 的距离为 $-\lg \beta$。

Kubinyi 双直线模型的图形一般如图 6-6 所示。

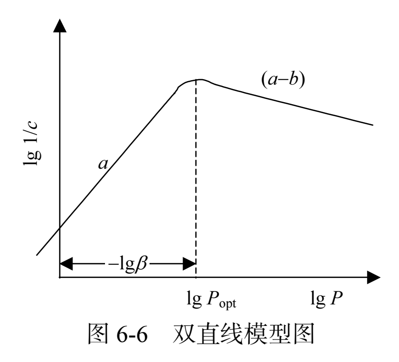


图 6-6　双直线模型图

用 Kubinyi 双直线模型拟合分配系数或疏水常数与生物活性的相关性，往往比抛物线模型的显著性高，这已由许多类药物的 QSAR 所证实。线性自由能相关法若用 Kubinyi 的非线性模型拟合，可得到如下的两个表达式：

$$\lg 1/c = a\lg P - b\lg(\beta P + 1) + \rho\sigma + \delta E_{\mathrm{s}} + C \tag{6-57}$$

$$\lg 1/c = a\pi - b\lg(\beta \cdot 10^{\pi} + 1) + \rho\sigma + \delta E_{\mathrm{s}} + C \tag{6-58}$$

6.3.3　立体参数

6.3.3.1　Taft 立体参数 E_s

Taft 立体参数(Taft’s steric parameters)E_s 是由有机化学的反应速率确定基团的立体效应[33]。其定义为：

$$E_s = \lg (k_X / k_H)_A \tag{6-59}$$

式中，k_H 和 k_X 分别是乙酸酯和取代的乙酸酯在酸性介质中的水解速率。乙酸酯类化合物的酸水解作用的决速步骤是水分子进攻被质子化的羰基碳，由于酯首先被质子化而带有正电荷，此时 X 的电性效应对羰基碳的影响小得多，可忽略不计，以致过渡态的生成受 X 的影响只是立体因素。根据定义，当 X=H 时 E_s 为 0，即与酯基相连的甲基的 E_s =0，为了求出直接与酯基相连氢的立体因素，需要考察甲酸酯的酸水解速率，其数值为 1.24。为了将 E_s 值都置于氢的尺度下，将测定的 E_s 值减去 1.24，则为基团的立体参数。氢的 E_s 值为零。立体因素越大，数值越小(因是负值)。常见基团的 E_s 值列于表 6-9 中。

酯分子酸性水解的过程

Hancock 等考虑到某些基团的 E_s 值不仅仅是立体效应，而且还有因超共轭作用(hyperconjugation)引起的电性效应，为了将酯基的α位氢的超共轭作用与立体效应分开，提出了立体参数 E_s^c，认为超共轭效与α氢原子数目 N_H 成正比，E_s^c 与 E_s 的关系为：

$$E_s^c = E_s - h(N_H - 3) = E_s + 0.306(N_H - 3) \tag{6-60}$$

式中，h 是超共轭效应的比例常数，经量子化学计算数值为–0.306。用 E_s^c 参数进行相关分析往往比 E_s 有较高的显著性[34]。

6.3.3.2　摩尔折射

摩尔折射(molar refractivity，MR)是描述立体因素的另一个物理量，其定义可

用 Lorenz-Lorentz 方程(6-61)说明[35]。

$$\mathrm{MR}=\frac{n^2-1}{n^2+2}\cdot\frac{\mathrm{MW}}{d}(\mathrm{cm}^3/\mathrm{mol}) \tag{6-61}$$

方程中 n 是液体的折射率，MW 为分子量，d 为密度，MW/d 是化合物的摩尔体积。由于有机化合物的折射率的变动范围较小，MR 基本上是由摩尔体积决定，并含有电性的影响。事实上摩尔极化作用(molar polarization，P_{m})可由式(6-62)表征，

$$P_{\mathrm{m}}=\frac{\varepsilon-1}{\varepsilon+2}\cdot\frac{\mathrm{MW}}{d} \tag{6-62}$$

ε为介电常数。当满足 Maxwell 关系式 $n^2=\varepsilon$ 时，摩尔折射等于摩尔极化。摩尔极化 P_{m} 与分子的极化度(polarizabiliby, α)的关系式：

$$P_{\mathrm{m}}=\frac{4\pi N_{\mathrm{A}}}{3}\cdot\alpha \tag{6-63}$$

α也可能是体积的一种量度。

分子的 MR 具有加和-组合性质，因而基团的 MR 值可以计算求出。常见的基团 MR 值列于表 6-9 中。

药物与受体结合时，摩尔折射的作用可能是立体因素，也可能是因极化产生的色散力因素，区分两者的作用是根据 MR 项的系数。若方程中 MR 项系数为负值时，往往是立体效应起作用，提示药物分子的形状和基团的体积不能与受体适宜地契合；若 MR 项系数为正值，则是分子或基团极化因素起作用。

6.3.3.3　范德华半径

范德华半径(van der Waals radius)是一种由 X 射线衍射数据和理论推导出的几何学参数。其定义是两个相同的原子靠近时，核外电子的相互排斥力和与核的吸引力达到平衡时原子核间距离的一半。两个未键合的原子临界分离距离(critical separation distance)是这两个原子的范德华半径之和[36,37]。原子范德华半径比其共价半径长，而且无论是键合或未键合的临界状态或在不同的相态下，其数值是不变的。根据这个观点，分子的立体化学既包括几何学因素，也有电性因素。药物与受体部位相互作用时，这两种因素都应考虑。常见原子的范德华半径 r_{w}(Å)列于表 6-8 中。

简单的取代基如 F、Cl、Br、I 呈球形对称，立体效应可用 r_{w} 值说明。但两个以上的复杂基团的立体效应则难以估算。Charton 提出，对称性基团如 CX_3 与母体骨架 G 处相连，垂直于 C—G 键的范德华距离有最大值 $r_{\mathrm{w,max}}$ 和最小值 $r_{\mathrm{w,min}}$，如图 6-7 所示。

表 6-8　Bondi 的范德华半径 r_w(Å)

原子	r_w	原子	r_w
H	1.20	S	1.80
C(sp^3)	1.70	Se	1.90
C(sp^2)	1.77	Br	1.85
C(sp)	1.78	Cl	1.75
N(NH_3)	1.55	I	1.98
N(N═N)	1.60	P	1.80
O(醚)	1.52	B	2.13
O(羰基平行排布)	1.35	Si	2.10
O(羰基垂直排布)	1.63	Mg	1.73
F	1.40	Hg	1.70

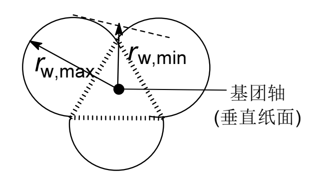


图 6-7　CX_3 基团的横切面

在进行定量构效分析时，CX_3 样对称性基团对邻近原子的立体影响，可用 $r_{w,max}$ 或 $r_{w,min}$ 作相关分析。由 $r_{w,max}$ 和 $r_{w,min}$ 可以计算出基团的平均范德华半径 r_{av}。

Charton 根据范德华半径提出了另一立体参数 v_x，其定义为：

$$v_x = r_{v,x} - r_{v,H} = r_{v,x} - 1.20 \tag{6-64}$$

并提出了有效立体参数 v_{eff}，它与 Taft E_s 有良好的线性关系。常见基团的 v_{max}、v_{min} 和 v_{eff} 数值列于表 6-9。

6.3.3.4　STERIMOL 参数

Verloop 等用 CPK(Corey-Pauling-Koltun)原子模型建造各种原子团，并根据共价半径、范德华半径、键角和柔性基团的最低能量构象等数据经 STERIMOL 程序统计计算出一种立体参数，称作 STERIMOL 参数 [38,39]，每个基团的参数用 5 个数值表征，即 L、B_1、B_2、B_3 和 B_4。L 的定义是取代基与母核相连的第 1 个键的轴向延长到最远原子的距离，表示取代基的长度；B_1~B_4 是垂直于该轴的截面上由轴心到基团界面的宽度，B_1 是最小宽度，B_2、B_3 和 B_4 的宽度依次增大，如图 6-8 所示。

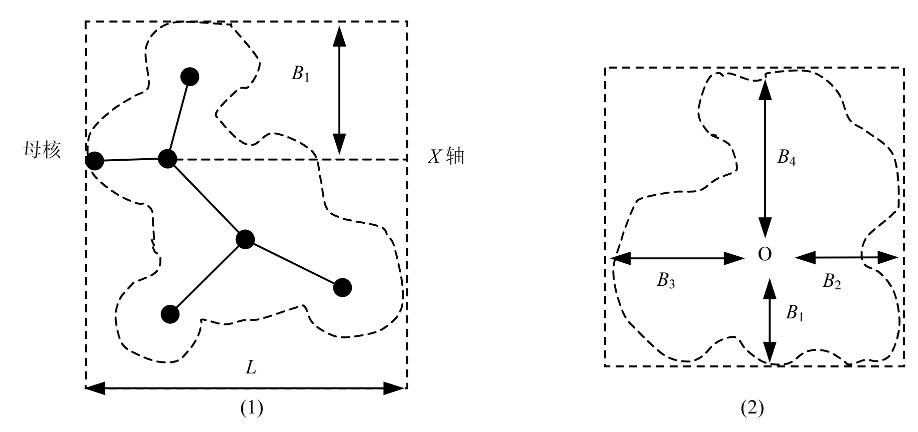


图 6-8　取代基的轴向切面图(1)和垂直轴向的横切面图(2)

在定量构效分析中，经回归分析可选择出某个参数值最为显著，表明基团在该方向与受体发生相互作用。

Verloop 为了避免出现过多的参数，将 B_1 和 L 固定，省略 B_2 和 B_3，在 B_1 的方向上，B_4 接近最大的宽度，因而又提出了 B_5 参数，以代替 B_4。这种新参数的特点是：轴向长度 L 不变；宽度的测量是由不同的起点：B_5 与 B_1 没有方向上的关系。常见基团的 L、B_1 和 B_5 列于表 6-9 中。

STERIMOL 参数的优点是具有方向性，L/B_1 和 B_4/B_1 比值是取代基偏离球形的程度，图 6-9 是估算甲氧基不同的 B_1~B_5 值。

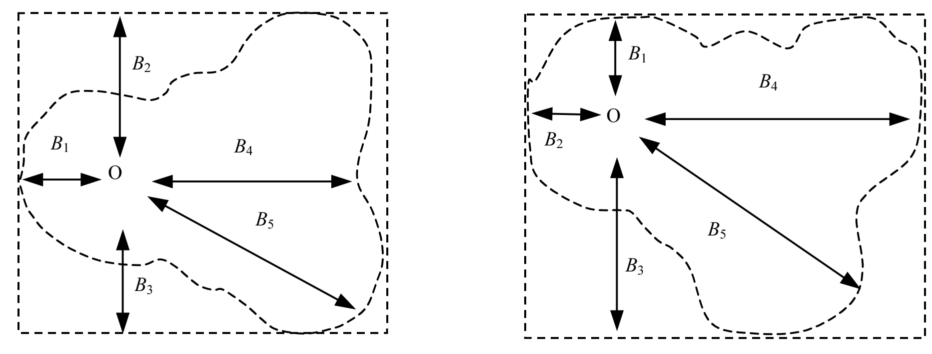


图 6-9　甲氧基的 B_1~B_5 值

用 STERIMOL 参数得到的回归方程可以很好地解释和认识药物-受体相互作用的立体因素。有趣的是，B_1 与 Charton 的 v_{min} 和 v_{eff} 常数以及 Taft E_s 参数都有良好的相关性。

表 6-9　取代基的立体参数

取代基	L	B_1	B_5	N_H-3	E_s	E_s^c	E_s^0	v_{eff}	v_{min}	v_{max}	MR	S^e
Br	3.82	1.95	1.95	—	−1.16	—	—	0.65	0.65	0.65	8.9	−0.82
CBr_3	4.09	2.86	3.75	−3	−3.67	—	−4.66	1.56	1.56	2.48	28.8	—
CCl_3	3.89	2.64	3.46	−3	−3.30	—	−4.29	1.38	1.38	2.22	20.1	—
Cl_3	4.23	1.60	1.60	—	—	—	—	1.79	1.79	2.80	44.1	—
CF_3	3.30	1.99	2.61	−3	−2.49	—	−3.39	0.90	0.90	1.53	5.0	—
CN	4.23	1.60	1.60	—	−0.51	—	—	0.4	0.40	0.40	6.3	−0.89
NC	4.23	1.60	1.60	—	—	—	—	—	0.40	0.40	6.3	—
CO_2	3.53	1.60	2.66	—	—	—	—	—	—	—	6.1	—
CHO	3.53	1.60	2.36	—	—	—	—	—	0.50	1.39	6.9	−2.36
CO_2H	3.91	1.60	2.66	—	—	—	—	—	0.50	1.39	6.9	—
CH_2Br	4.09	1.52	3.75	−1	−1.51	—	−1.84	0.64	—	—	13.4	—
CH_2Cl	3.89	1.52	3.46	−1	−1.48	—	−1.81	0.6	—	—	10.5	—
CH_2l	4.36	1.52	4.15	−1	−1.61		—	0.67	—	—	18.6	—
$CONH_2$	4.06	1.50	3.07	—	—	—	—	—	0.50	1.39	9.8	—
CH═NOH(Z)	3.94	1.60	4.07	—	—	—	—	—	—	—	10.3	—
CH═NOH(E)	5.05	1.60	2.88	—	—	—	—	—	—	—	10.3	—
Me	2.87	1.52	2.04	0	−1.24	−1.24	(−1.24)	0.52	0.52	1.03	5.7	−0.73
CH_2OH	3.97	1.52	2.70	−1	−1.21	—	−1.63	0.53	—	—	7.2	−0.67
				−1	−1.21		−1.64				7.2	—
CH_2NH_3	4.02	1.52	3.05	—	—	—	—	0.54	—	—	9.1	—
C≡CH	4.66	1.60	1.60	—	—	—	—	0.58	0.58	0.58	9.6	—
CH_2CN	3.99	1.52	4.12	−1	−2.18	—	—	0.89	—	—	10.1	—
				−1	−2.38	—	2.65	—	—	—	10.1	—
$CH{=}CH_2$	4.29	1.60	3.09	—	—	—	—	—	—	—	11.0	−1.48
COMe	4.06	1.60	3.13	—	—	—	—	—	—	—	11.2	−2.28
CO_2Me	4.73	1.64	3.36	—	—	—	—	—	0.50	1.39	12.9	−1.04
CH_2CO_2H	4.74	1.52	3.78	—	—	—	—	—	—	—	11.9	—
CH_2CONH_2	4.58	1.52	4.37	—	—	—	—	—	—	—	14.4	—
Et	4.11	1.52	3.17	−1	−1.31	−1.62	−1.51	0.56	—	—	10.3	−1.08
CH_2CH_2OH	4.79	1.52	3.38	—	—	—	—	0.77	—	—	11.8	−0.86
$C{\equiv}CCF_3$	5.90	1.99	2.61	—	—	—	—	0.58	0.58	0.58	14.1	—

续表

取代基	L	B_1	B_5	N_H-3	E_s	E_s^c	E_s^0	v_{eff}	v_{min}	v_{max}	MR	S^e
C≡CMe	5.47	1.60	2.04	—	—	—	—	0.58	0.58	0.58	14.1	—
$CH_2CH=CH_2$	5.11	1.52	3.78	—	—	—	—	0.69	—	—	14.5	—
Cyclopropyl	4.14	1.55	3.24	—	—	—	—	1.06	—	—	13.5	—
CH_2COMe	4.54	1.52	4.39	−1	−1.99	—	2.32	—	—	—	15.1	—
CO_2Et	5.95	1.64	4.41	—	—	—	—	—	0.50	1.39	17.5	−1.25
$CH_2CH_2CO_2H$	5.97	1.52	3.31	−1	−2.21	−2.52	−2.32	—	—	—	16.5	—
Pr	4.92	1.52	3.49	−1	−1.60	−1.91	−1.80	0.68	—	—	15.0	—
$CHMe_2$	4.11	1.90	3.17	−2	−1.71	−2.32	−2.09	0.76	—	—	15.0	−1.44
Cyclobutyl	4.77	1.77	3.82	−2	−1.30	−1.91		0.51	—	—	17.9	—
Bu	6.17	1.52	4.54	−1	−1.63	−1.94	−1.83	0.68	—	—	19.6	—
CH(Me)Et	4.92	1.90	3.49	−2	−2.37	−2.98	−2.77	1.02	—	—	19.6	—
CMe_3	4.11	2.60	3.17	−3	−2.78	−3.70	−3.38	1.24	1.24	1.97	19.6	−3.94
2-Thienyl	6.53	1.64	3.37	—	—	—	—	—	—	—	24.0	−2.46
CEt_3	4.92	2.94	4.18	−3	−5.04	−5.96	—	1.06	1.06	2.13	33.5	—
2-Pyridyl	6.28	1.71	3.11	—	—	—	—	—	—	—	23.0	−2.35
Cyclopentyl	4.90	1.90	4.09	−2	−1.75	−2.36	—	0.71	—	—	22.0	—
C_5H_{11}	6.97	1.52	4.94	−1	−1.64	−1.95	−1.84	0.68	—	—	24.3	—
$(CH_2)_3NMe_2$	6.88	1.52	5.49	—	—	—	—	—	—	—	28.0	—
Ph	6.28	1.71	3.11	—	−1.01	—	—	—	0.57	2.15	25.4	−1.82
					−3.79							
Cyclohexyl	6.17	1.91	3.49	−2	−2.03	−2.64	—	0.87	—	—	26.7	—
$(CH_2)_3\overset{+}{N}Me_3$	6.88	1.52	3.49	−1	−2.59	−2.90	−2.67	—	—	—	—	—
COPh	5.81	1.60	3.98	—	—	—	—	—	—	—	30.3	—
CH_2Ph	4.62	1.52	6.02	−1	−1.61	—	—	0.70	—	—	30.0	−1.16
				−1	−1.62							—
1-Naphthyl	6.28	1.71	5.50		—	—	—	—	—	—	41.6	−0.75
Adamantyl	6.17	3.16	3.49	—	—	—	—	1.33	—	—	40.6	
Cl	3.52	1.80	1.80	—	−0.97	—	—	0.55	0.55	0.55	6.0	−0.54
F	2.65	1.35	1.35	—	−0.46	—	—	0.27	0.27	0.27	0.9	—
$GeBr_3$	4.67	3.07	4.17	—	—	—	—	1.73	1.73	2.81	36.4	—
$GeCl_3$	4.47	2.85	3.87	—	—	—	—	1.53	1.53	2.51	25.8	—
GeF_3	3.88	2.20	3.03	—	—	—	—	1.05	1.05	1.84	6.9	—

续表

取代基	L	B_1	B_5	N_H-3	E_s	E_s^c	E_s^0	v_{eff}	v_{min}	v_{max}	MR	S^e
H	2.06	1.00	1.00	—	(0)	—	—	0	0	0	1.0	—
I	4.23	2.15	2.15	—	−1.40	—	—	0.78	0.78	0.78	13.9	—
NO_2	3.44	1.70	2.44	—	−1.01	—	—	—	0.35	1.39	7.4	—
					−2.52							
NH_2	2.78	1.35	1.97	—	−0.61	—	—	0.35	—	—	5.4	−0.93
NHOH	3.87	1.35	2.63	—	—	—	—	—	—	—	7.2	—
$\overset{+}{N}H_3$	2.78	1.49	1.97	—	—	—	—	0.49	0.49	0.97	—	—
$NHNH_2$	3.47	1.35	2.97	—	—	—	—	—	—	—	8.4	—
$NHCONH_2$	5.06	1.35	3.61	—	—	—	—	—	—	—	13.7	—
NHMe	3.53	1.35	3.08	—	—	—	—	0.39	—	—	10.3	—
NHCOMe	5.09	1.35	3.61	—	—	—	—	—	—	—	14.9	−1.93
NHEt	4.83	1.35	3.42	—	—	—	—	0.59	—	—	15.0	—
NMe_2	3.53	1.35	3.08	—	—	—	—	0.43	—	—	15.5	−2.32
$NHCO_3Et$	7.25	1.35	3.92	—	—	—	—	—	—	—	21.2	—
$\overset{+}{N}Me_3$	4.02	2.57	3.11	—	−2.84	—	—	1.22	1.22	1.91	—	—
NHBu	6.88	1.35	4.87	—	—	—	—	0.70	—	—	24.3	—
NHPh	4.53	1.35	5.95	—	—	—	—	—	—	—	30.0	—
NHCOPh	8.40	1.70	3.97	—	—	—	—	—	—	—	34.6	—
OH	2.74	1.35	1.93	—	−0.55	—	—	0.32	—	—	2.8	—
OCF_3	4.57	1.35	3.61	—	—	—	—	—	—	—	7.9	—
OMe	3.98	1.35	3.07	—	−0.55	—	—	0.36	—	—	7.9	1.28
OEt	4.80	1.35	3.36	—	—	—	—	0.48	—	—	12.5	−1.36

6.3.3.5　差异性描述符

通过构效分析研究药物-受体的识别过程和特异的相互作用,有时用结构叠合方法揭示立体效应有重要价值。差异性描述符(differential descriptors)方法是通过研究一系列化合物以不同程度与受体作用的结构特征，推断和演绎出受体部位的结构和物化本质，因此这是一种受体映射方法(receptor mapping)。然而药物分子的某个(些)部分未必精密地与受体作用，只有确实与受体作用的部分才会间接地提供受体的结构信息。这样，可将系列化合物的结构叠加一起，用化合物共有的空间结构，确定受体结合或识别部位的结构。

Amoore 等提出相似性指数(similarity indices)，研究化合物影响生物活性(如味觉)的立体化学因素，是以一个化合物作为参比物，其他分子逐个与其比较，将填充式分子模型(CPK)的正面、前面和上面(互成正交)的分子轮廓叠加比较，即叠加分子的重心和主轴的共线性。由重心到周边每转动 10º 作叠加比较，共 36 次。每对化合物的距离差异为Δ值，平均值(3 个投影)为$\bar{\Delta}$，用式(6-65)作标准化处理：

$$\bar{\Delta}_n = 1/(1+\bar{\Delta}) \tag{6-65}$$

$\bar{\Delta}_n$与分子形状的差异相关，它是分子在三维结构中差异的一种量度。

Simon 用最小立体差异(minimal steric difference，MSD)表示立体效应，认为药物与受体的作用随着药物的空间非契合性和受体腔穴(cavity)的存在而减弱，即活性受药物的非交盖体积和受体腔穴的总和的影响。药物分子若有数种低能量构象，则它会采取与受体腔穴最佳契合的那种构象，方法是以天然的底物或活性最高的分子为基准，其他分子的平面结构与它重叠，键长和键角的微小差异忽略不计后，计数未重叠的原子(不计氢原子)，该数值为 MSD。原子的范德华体积不同，需有加权因子，例如周期表的第一周期元素原子的权重为 1.0，第二周期的为 1.5，第三周期的为 2.0，对加权后的 MSD 进行比较。例如表 6-10 列出的胆碱类化合物，乙酰胆碱为基准物(S)，结果表明，MSD(S, S_1)=0．MSD(S, S_2)=4，MSD(S, S_3)=2，MSD(S, S_4)=2，MSD(S, S_5)=3。显然，S_1 与 S 完全重叠，S_2 重叠最差。值得指出的是任何分子都可以作为基准物。经反复试验，可得出高相关系数的方程：

$$A_i = \alpha - \beta(\mathrm{MSD})_i \tag{6-66}$$

式中，A_i 是生物活性；α 是其他结构因素的函数，即$\alpha=\alpha_0+\alpha_1\pi_i+\alpha_2\pi_i+\alpha_3\pi_i+\cdots\cdots$。用 MSD 法作为立体因素的量度可以解释许多事实，但 MSD 的不足之处是不具有普遍可应用的取代基常数。

表 6-10　三甲铵衍生物对胆碱受体的作用

$(H_3C)_3\overset{+}{N}CH_2CH_2OC(=O)CH_3$ 乙酰胆碱（S）	$(H_3C)_3\overset{+}{N}CH_2CH_2CH_2C(=O)CH_3$ （S_1）	$(H_3C)_3\overset{+}{N}CH_2CH_3$ （S_2）
$(H_3C)_3\overset{+}{N}CH_2C(=O)CH_2CH_2CH_3$ （S_3）	$(H_3C)_3\overset{+}{N}CH_2CH_2C(=O)CH_2CH_3$ （S_4）	$(H_3C)_3\overset{+}{N}CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ （S_5）

另一个用叠合方法研究立体效应的描述符是 Hopfinger 提出的分子形状分析(molecular shape analysis，MSA)。该方法是将一组同源物经分子力学计算确定最低能量构象，然后如上述 MSD 法那样，选择一个基准物与其他分子作形状比较，

基准物(S)与各化合物(i)的总重叠体积为 $V_0(i，S)$，是用复杂的程序计算求得的。此外，还引入两个函数：$S_0= V_0^{2/3}$ 和 $L_0= V_0^{1/3}$，作为分子形状的描述符。若基准物的形状最接近并契合受体的腔穴，则 V_0 应是所研究的同源物占据受体腔穴的体积，S_0 近似于二者接触的表面积。显然 MSA 法需要对每个分子进行计算，确定 V_0 和 S_0 值，因此没有可供普遍使用的取代基常数。

6.3.3.6　分子连接性

Randic 根据图论把分子内的支化连接的拓扑学性质用简单的数字串表示[40]，进而 Kier 等[5]发展成分子连接性(molecular connectivity)指数(χ)，表征分子的拓扑性质。Kier 认为化合物的结构同它们的某些性质间的定量关系所需的结构信息包含在化合物的隐氢图中。用点价概念描述原子的特征。例如烷烃碳原子的点价 $\delta_i=4-h_i$，4 是碳原子的价电子数，h_i 是该碳所连的氢原子数；杂原子的连接性点价 $\delta_i^{\mathrm{v}}=Z^{\mathrm{v}}-h_i$，$Z^{\mathrm{v}}$ 为杂原子的价电子数。表 6-11 列出某些杂原子的连接性点价。

表 6-11　某些杂原子的 δ^{v} 值

基团	δ^{v}	基团	δ^{v}	基团	δ^{v}
NH_4^+	1	—N(—)—(季氮)	6	═O	6
NH_3	2	—N(—)═(硝基)	6	O(硝基上氧)	6
$—NH_2$	3	—S—	0.944	O(羧基上氧)	6
—NH—	4	═S(—)═	3.58	—F	(–)20
═NH	4	H_3O^+	3	—Cl	0.690
—N—	5	H_2O	4	—Br	0.254
≡ N	5	—OH	5	—I	0.085
═(N)—(吡啶)	5	—O—	6		

卤素原子有相同的价电子数，理应有相同的δ^{v}值，但表中不同的数值是根据卤素原子的摩尔折射修正的经验δ^{v}值。分子连接性指数 ${}^m\chi_1$ 是由所有不同形式相连的隐氢图求和而得，以式(6-67)表示：

$$ {}^m\chi_t=\sum_{j=1}^{n_m}{}^mS_i \tag{6-67}$$

式中，n_m 是边为 m 的 t 类型子图的数目；${}^mS_j$ 为子图项；j 是子图序号。子图项 ${}^mS_j$ 的计算公式为:

$$^{m}S_{j}=\prod_{i=1}^{m+1}\left(\delta_{i}\right)_{j}^{-\frac{1}{2}} \tag{6-68}$$

式(6-68)代入(6-67)得总合式，计算分子连接性指数 $^{m}\chi_{t}$：

$$^{m}\chi_{t}=\sum_{j=1}^{n_{m}}\prod_{i=1}^{m+1}\left(\delta_{i}\right)_{j}^{-\frac{1}{2}} \tag{6-69}$$

式中 t 代表子图类型，例如径型(P)，簇型(C)，径-簇型(PC)或链型(CH)；m 代表连接性指数的价数；n_m 代表价为 m 的 t 类子图的数目；j 为子图序号；δ_{ij} 代表第 j 个子图中 i 原子的点价。对于含有环状结构、不饱和键和杂原子的化合物分子连接性指数需作进一步修正。

关于计算方法，以 $^{1}\chi=\sum_{k=1}^{n}\left(\delta_{i}\delta_{j}\right)_{k}^{-\frac{1}{2}}$ 为例加以说明，式中 i 和 j 代表相邻两个结合的原子，k 为结合键，n 为键的总数。例如化合物 2,2-二甲基-3-甲基丁醇和 3,4-二甲基戊醇的 $^{1}\chi$值分别按图 6-10 所标示的计算。

$1/\sqrt{1\cdot4}$　$1/\sqrt{1\cdot3}$　$1/\sqrt{3\cdot4}$　$1/\sqrt{2\cdot4}$　$1/\sqrt{2\cdot1}$　$1/\sqrt{1\cdot3}$　$1/\sqrt{1\cdot4}$

```
                        C(1)
                         |
C(1) —— C(3) —— C(4) —— C(2) —— O(1)
         |               |
        C(1)            C(1)
```

$^{1}\chi=1/\sqrt{3}+1/\sqrt{12}+1/\sqrt{3}+1/\sqrt{4}+1/\sqrt{4}+1/\sqrt{8}+1/\sqrt{2}=3.504$

$1/\sqrt{1\cdot3}$　$1/\sqrt{1\cdot3}$　$1/\sqrt{3\cdot3}$　$1/\sqrt{1\cdot3}$　$1/\sqrt{3\cdot2}$　$1/\sqrt{2\cdot2}$　$1/\sqrt{2\cdot1}$

```
C(1) —— C(3) —— C(3) —— C(2) —— C(2) —— O(1)
         |        |
        C(1)     C(1)
```

$^{1}\chi=1/\sqrt{3}+1/\sqrt{9}+1/\sqrt{3}+1/\sqrt{6}+1/\sqrt{3}+1/\sqrt{4}+1/\sqrt{2}=3.681$

图 6-10　分子连接性指数 $^{1}\chi$ 的计算

括弧内数值为δ值

分子连接性指数是以数值的形式反映分子的结构信息，具有加和和构成的性质，它既反映分子结构的立体性质，也与许多物理参数有关。例如 $^{1}\chi$ 与摩尔折射有良好的相关性：

$$\text{MR}=9.26\ {}^{1}\chi+1.60\quad n=36,\ r=0.990,\ s=8.59 \tag{6-70}$$

有许多物理化学性质如沸点、生成热、液体密度和分配系数等与 χ 有显著相

关性，因而作为拓扑学参数在定量构效分析中有时可建立良好的相关方程。但该参数由于种类太多，更重要的是物理意义不明确，无预测性和无法分辨几何异构体或旋光异构体的性质间差异，因而有局限性。

6.3.4　指示变量

指示变量(indicator variable)，又称哑变量，常用于线性自由能相关分析中描述某些不能用连续变量说明的某种结构特征[41]。通常指示变量赋值为 1 和 0，以表征该结构特征的有或无。指示变量是种经验性的参数，当结构特征不能用物理化学参数表示时，使用这种变量往往可以揭示该结构特征对活性的贡献。例如分子内氢键的有无，是氢的供给体还是氢的接受体；位置异构体的邻位效应；顺-反异构现象；不同的母体结构以及不同的试验模型等，通过引入指示变量可使本来需按亚组分析的数据，统一到一个方程处理。例如 *N*-烷基取代的林可霉素(lincomycin)的抗菌作用的定量构效关系表明，反式异构体的活性比顺式高(R_2)，*N*-甲基和 *N*-乙基系列的 QSAR 如方程(6-71)和(6-72)所示：

R_1, H, CH_3, N, N, OH, O, R_2, O, OH, SCH_3, OH

林可霉素

N-甲基系列(R_1=CH_3)：

$$\lg 活性 = -0.274\pi^2 + 1.458\pi - 0.238$$

$$n = 14, r = 0.961, s = 0.155, F = 68.27 \qquad (6\text{-}71)$$

N-乙基系列(R_1=C_2H_5)：

$$\lg 活性 = -0.284\pi^2 + 1.448\pi - 0.308$$

$$n = 11, r = 0.963, s = 0.167, F = 51.76 \qquad (6\text{-}72)$$

这两个方程都包括有顺-反异构体，引入指示变量 *I*(反式体 *I*=1；顺式体 *I*=0)，得到相应的方程(6-73)和(6-74)，有明显的改善：

N-甲基系列：

$$\lg 活性 = -0.262\pi^2 + 1.402\pi + 0.196I - 0.282$$

$$n = 14, r = 0.980, s = 0.117, F = 83.51 \tag{6-73}$$

N-乙基系列：

$$\lg \text{活性} = -0.298\pi^2 + 1.528\pi + 0.228I - 0.527$$

$$n = 11, r = 0.984, s = 0.115, F = 75.62 \tag{6-74}$$

两个方程的指示变量系数分别为 0.196 和 0.228，表明反式体的活性分别比相应顺式体活性大 1.57 倍和 1.69 倍。方程(6-73)和(6-74)还说明，影响活性的各物理化学性质非常相似，只是 *N*-乙基系列比 *N*-甲基化合物的活性弱，这可从常数项的差异计算出，即 *N*-乙基比相应的甲基化合物的活性弱 1.76 倍[anti-lg(0.527-0.282)]。若引入另一指示变量 E_t，以表征 *N*-甲基和 *N*-乙基的结构特征(*N*-乙基系列 E_t=1；*N*-甲基系列 E_t=0)，则顺-反异构体和 *N*-甲基和 *N*-乙基取代化合物统一为一个构效方程(6-75)：

$$\lg \text{活性} = -0.242\pi^2 + 1.388\pi + 0.232I - 0.203E_t - 0.413$$

$$n = 25, r = 0.960, s = 0.162, F = 60.21 \tag{6-75}$$

指示变量虽然用途很广，并在许多场合下很有意义，但应用时需要小心，误用会导致无意义的甚至错误的结论。

6.4 统计学处理

6.4.1 线性回归分析法

回归分析得到的构效方程，应具有显著性意义，因而方程需有统计学参数确保其有效性。首先，每个回归系数应包括有各自的 95%可信限度(95% confidence intervals)。95%可信限应小于其相应的回归系数，可信限小表示误差小。在回归方程后面应至少包括以下几个参数：样本数 n，即参与回归计算的化合物的数目；相关系数 r (correlation coefficient)，标准偏差 s (standard deviation)和 F 值。

相关系数 r 是方程对数据拟合的相对量度，是由残余方差，即方程不能解释的方差 $\sum(y_{\text{观测}} - y_{\text{计算}})^2$ 和数据的总方差 $\sum(y_{\text{观测}} - y_{\text{平均}})^2$ 按式(6-76)计算得出的：

$$r = \sqrt{\left(1 - \frac{\sum\left(y_{\text{观测}} - y_{\text{计算}}\right)^2}{\sum\left(y_{\text{观测}} - y_{\text{平均}}\right)^2}\right)} \tag{6-76}$$

未被解释的方差越小，则相关系数越大并接近于 1。相关系数还取决于数据

的总方差，数值越大，相关系数也越大。当方程中包含有与 $y_{平均}$ 相距甚大的数据、但与所有其他的 y 值不能很好地拟合时，也会提高 r 值。为了解决这个问题，用式(6-77)校正的 r 值加以说明：

$$r_{校正} = \sqrt{\left(1 - \frac{(n-1)(1-r^2)}{n-k}\right)} \tag{6-77}$$

式中，n 为化合物数目；k 为变量数。

标准偏差 S 与相关系数的区别，是说明方程对数据拟合的绝对量度，它只与未被解释的方差和自由度(n - k -1)有关，如方程(6-78)所示。

$$S = \sqrt{\frac{\sum\left(y_{观测} - y_{计算}\right)^2}{n-k-1}} \tag{6-78}$$

F 值用以检验回归方程的显著性，用方程(6-79)计算：

$$F_{k,n-k-1} = \frac{r^2(n-k-1)}{(1-r^2)k} \tag{6-79}$$

方程中 r^2 相当于可解释的方差，$1-r^2$ 是未被解释的方差。可解释的方差和自由度越大，F 值则越大，而变量数增多，会降低方程的 F 值。

进行线性多重回归分析，每加入一个变量需要用部分 F 检验加以核对，称作序贯 F 检验(sequential F test)，用式(6-80)计算：

$$F_{k_2-k_1,n-k_2-1} = \frac{(r_2^2 - r_1^2)(n-k_2-1)}{(1-r_2^2)(k_2-k_1)} \tag{6-80}$$

式中，k_1 和 k_2 是增加一个变量前和后的变量数，$r_1{}^2$ 和 $r_2{}^2$ 分别是增加一个变量前和后的可解释的方差。

一个良好的 QSAR 方程应当具有以下的统计学特征：相关系数应接近于 1；方程的标准偏差不得过分大于生物活性的标准偏差；F 值检验的显著性水平在 95%以上；每个自变量的回归系数在 95%可信度上是显著的，即回归系数应大于可信限值。

6.4.2　偏最小二乘法

当自变量数很大，例如有成百上千个数值，而因变量数(如化合物活性)较少

时，就不能采用回归分析的方法，此时可用偏最小二乘法(partial least squares，PLS)处理[7]。偏最小二乘法是一种主因子分析法，向量的提取不是独立地从自变量(X)和因变量(Y)中获得，而是经过非线性迭代偏最小二乘法从 X 和 Y 中获得向量，虽然各自的向量仍然在相应的 X 和 Y 中，但可优化向量之间的相关性[42]。

由于自变量 X 数量很大，在偏最小二乘分析中会得到很好的相关性。为了使生成的模型反映真实情况并有较高的预测性，需要用交叉验证方法[43]。在运算过程中，用抽一法(leave one out)验证生成模型的预测能力。标准偏差 S_{PRESS} 用来表征最佳主成分数目的标准，PRESS 是预测值的平方差之和除以自由度数。如果提取出的成分过多，就会产生过分的预测性，PRESS 和 S_{PRESS} 就会增加。预测值误差的标准偏差(SDEP)相当于 S_{PRESS}，唯一的区别是在计算 SDEP 时不考虑自由度数目。

相关系数的平方 r^2 定义与回归分析的相同，r^2_{PRESS} 值是用 PRESS 进行交叉验证，而不是用交叉验证可解释的方差。交叉验证的 r^2 值永远略小于包括所有样本的 r^2 (r^2_{FIT})，这取决于模型的质量。如果过分预测非常严重，r^2_{PRESS} 即为负值，表示用该模型的预测比 $Y_{平均}$值更差。自举法(bootstrapping)是在 n 个样本的原始集中进行 n 次随机选择，多次在大的样本集中模拟取样。每一项的可信限的估算是由 PLS 模型的稳定性进行独立测定而得到的。PLS 分析在 CoMFA 等 3D-QSAR 得到广泛的应用。

6.5 举　例

6.5.1 磺胺化合物的抗菌作用

取代的对氨基苯磺酰胺具有不同的抗菌作用，不同的取代基影响磺酰胺氮的电荷密度，因而氢原子的离解性不同。下式中的 R 可以是取代的苯环或杂环，其抗菌作用与离解常数有式(6-81)和式(6-82)的关系[44]：

$H_2N-C_6H_4-SO_2N'HR$

磺胺

$$\lg(1/c)=2.103(0.29)\,\mathrm{p}K_a-0.155(0.02)\,\mathrm{p}K_a^2-1.351(0.96)$$

$$n=39，r=0.939，s=0.321，\mathrm{p}K_{\mathrm{a(opt)}}=6.78 \tag{6-81}$$

$$\lg(1/c)=1.044(0.15)\mathrm{p}K_{\mathrm{a}}-1.640(0.18)\lg(\beta\cdot10^{pK_{\mathrm{a}}}+1)+0.275(0.65)$$

$$n=39，r=0.956，s=0.275，\lg\beta=-5.96，\mathrm{p}K_{\mathrm{a(opt)}}=6.22 \tag{6-82}$$

方程(6-82)为双直线模型，优于方程(6-81)的抛物线模型。图 6-11 是活性与 pK_a 的作图。式中 c 为化合物于 pH=7 时对离体大肠杆菌试验的最低抑菌浓度(mol/L)。该方程的意义如下：磺胺与对氨基苯甲酸竞争性地与叶酸合成酶结合，磺酰胺基越具负电性，则越加类似于对氨基苯甲酸负离子，由于磺酰胺上的负电荷影响，离解型的磺胺比中性的磺胺活性更高，随着 N'-取代基的拉电子性增强，pK_a 降低，离解型的磺胺增加，活性增加，但是当 N'-取代基的拉电子性再增加时，在磺酰胺的氮原子上的负电荷被 N'-取代基所吸引，使磺酰基的负性减少，以致活性降低。此时增加的 N'-取代基的拉电子性使活性降低，抵消了由于增加有活性的离子的比例所增加的活性，该平衡点的活性达最大值，即最适 pK_a 值，由方程(6-81)和(6-82)计算 p$K_{a(opt)}$分别为 6.78 和 6.22。

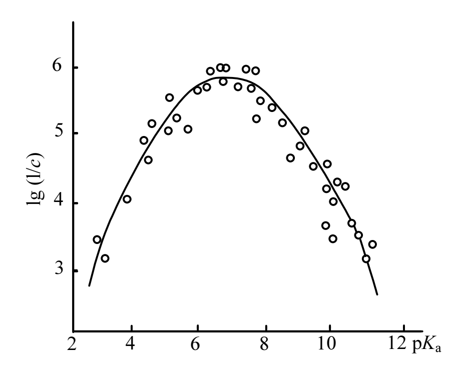


图 6-11　N'-取代的磺胺活性与 pK_a 的关系

6.5.2　亚硝脲的抗白血病作用

亚硝脲类化合物是对实体瘤和白血病都有效的抗癌药物。研究 90 个化合物对小鼠移植性白血病细胞 L 1210 的抑制作用，得到如下的构效方程[45]：

$$X{-}H_2C{-}H_2C{-}\underset{\substack{|\\ N=O}}{N}{-}\overset{\substack{O\\ \|}}{C}{-}NHR$$

亚硝脲类化合物

$$\lg 1/c = -0.13(0.07)\lg P - 0.014(0.015)(\lg P)^2 - 0.76(0.15)I_1 + 0.33(0.17)I_2 - 0.24(0.11)I_3 + 1.78(0.09)$$

$$n=90,\ r=0.868,\ s=0.206,\ \lg P_{opt}=-4.4 \qquad (6\text{-}83)$$

式中，c 是腹腔注射亚硝脲后引起肿瘤细胞减少 1000 倍的化合物摩尔质量浓度(mol/kg)；$\lg P_{opt}$ 是最适分配系数，90 个化合物的最低分配系数是−1.48，最适分

配系数是–4.4，所以方程(6-83)表明高亲水性的化合物会产生更强的活性。I_1 是指示变量，当 R 含有 α-取代的烷基或环烷基时，I_1=l，否则为零。方程中 I_1 的系数为负值，表明 I_1 位的支链取代会因不利的立体因素使抗癌活性降低；当 R 为硫代烷基或该硫原子被单氧化成亚砜基时 I_2 赋值为 1，无硫原子时为零，若化合物含有砜基结构时，不使用指示变量。I_2 的系数为 0.33，说明有此结构片段时活性增加两倍，可能是硫醚在细胞内易氧化成亚砜或砜，氧化后的分子的 lg P 值降低，表明这些化合物的潜在的亲水性有利于活性。当 X 是氟时，I_3=l，X 是氯时，I_3=0，I_3 的系数为–0.24，表明氟代的抗癌活性低于相应的氯代化合物。

101 个亚硝脲化合物的毒性(LD_{10})与结构的关系如式(6-84)所示：

$$\lg(1/c) = -0.038(0.008)(\lg P)^2 - 0.53(0.17)\, I_1 + 0.98(0.08)$$

$$n=\text{l}01,\ r=0.755,\ s=0.276,\ \lg P_{opt}=0 \qquad (6\text{-}84)$$

式中 c 是引起 10%小鼠致死的摩尔质量浓度。由于 LD_{10} 值的变差较小，方程(6-84)的 r 和 s 值较差。该毒性方程有一个指示变量 I_1，系数与方程(6-83)的 I_1 相近。两个方程的截距(即常数项)的差值 1.78–0.98=0.80，是治疗指数的量度，表明 LD_{10} 的剂量是使白血病细胞数减少 1 千倍剂量的 6 倍(anti-lg 0.80=6.63)，方程(6-84)中加入 lg P 项，无显著性差异。式(6-83)和(6-84)的 lg P_{opt} 值的差异是亚硝脲类抗肿瘤作用和毒性的疏水性差异，为了设计毒性低活性高的亚硝脲化合物，应当有较强的亲水性，但不宜是离解性的亲水化合物，因为电荷不利于穿越细胞膜，而且药物与血浆蛋白结合力减弱，使活性降低。若 R 是寡糖基，则每引入 1 个单糖基 lg P 降低 0.7~1.0。Suami 等发现 R 为β-麦芽糖苷，β-乳糖苷或β-纤维二糖苷时，对 L 1210 白血病的作用时间增加了 4~5 倍，而且麦芽糖苷衍生物的毒性也较低。

6.5.3　芳香三嗪化合物的抗癌作用

三嗪类化合物具有抗肿瘤活性，方程(6-85)是对小鼠白血病 L1210 抑制活性的构效方程[46]：

X–C₆H₄–N=N–N(CH₃)R

取代的三嗪化合物

$$\lg(1/c_{140}) = 0.100(0.08)\lg P - 0.042(0.02)(\lg P)^2 - 0.312(0.11)\,\Sigma\sigma^+$$

$$-0.178(0.08)\text{MR}_{(2,6)} + 0.391(0.81)E_s(\text{R}) + 4.124(0.27) \qquad (6\text{-}85)$$

$$n=61,\ r=0.836,\ s=0.191,\ \lg P_{opt}=1.18$$

式中 c_{140} 是使治疗组小鼠的生命延长为对照组时间的 140％的摩尔剂量；$MR_{(2,6)}$ 是苯环 2,6 位两个取代基的摩尔折射之和(乘以 0.1)；$E_s(R)$是侧链末端基 R 的 Taft 立体参数。该系列化合物的最适 lg P 值比亚硝脲的抗白血病 lg P_{opt} 值高，表明这类化合物的活性需要一定的疏水性。$MR_{(2,6)}$项的系数为负值，说明于两个邻位的取代基不利于活性；$E_s(R)$系数为正值，说明较小的 N-取代基有利于活性，但因单甲基取代胺不稳定，故最好是二甲胺基取代的侧链。

$\Sigma\sigma^+$项系数为负值，表明推电子基团有利于提高活性。然而推电子基团会增加化合物的水解速率，例如，当推电子性超过甲氧基时，在 37℃水溶液的半衰期较短，约为 12 min，对抗癌作用是不利的。水解速率与基团电性的关系如式(6-86)所示：

$$\lg(k_X/k_H)=-4.42(0.29)\sigma-0.016(0.13) \quad n=14,\ r=0.995,\ s=0.171 \tag{6-86}$$

由于增加活性的途径似乎难以找到，可从降低毒性的环节提高治疗指数。11 个化合物的 LD_{50} 与物化参数的 QSAR 如式(6-87)所示[47]：

$$\lg(1/LD_{50})=-0.024(0.013)(\lg P)^2-0.264(0.16)\sigma^+ +3.490(0.12) \tag{6-87}$$

$$n=11,\ r=0.913,\ s=0.110$$

这 11 个化合物的 1gP 的范围为 0.98~4.70；σ^+的范围为–0.78~0.66。方程中只有 1g P 平方项，加入一次项 1g P 项或用σ^+代替σ都不能改善方程的显著性。虽然 lg P_{opt} 接近于零，但因$(1g\ P)^2$ 项系数很小，为改变毒性，需要 lg P 值有很大的变化。假如将 lg P=6，σ^+=0 代入方程(6-87)，则 $\lg(1/LD_{50})=2.6$，而将σ^+=0，$MR_{(2,6)}=0.2$ 和 $E_{s(R)}=-1.24$(R 为 CH_3)代入方程(6-85)，则 $\lg(1/c_{140})=2.7$，因而治疗指数为 1.04，同样的方法将 lg P=1 代入方程(6-86)和(6-87)，则治疗指数为 0.95，所以，改变 lg P 值不能提高化合物的疗效。σ^+项在方程(6-85)和(6-87)中的系数相近，表明电性作用对活性和毒性有平行的影响，因而改变不了治疗指数。由以上分析，可以认为很难从结构分析中将三嗪类化合物的活性和毒性分开，预示设计优良的化合物的成功率较低。

6.5.4　磷酸酯的抑制胆碱酯酶作用

取代的磷酸二乙酯苯酯类化合物对家蝇脑中胆碱酯酶抑制作用的构效方程为

磷酸二乙酯苯酯化合物

$$\lg(1/I_{50}) = 2.37\,(0.58)\,\sigma^{-} + 4.38\,(0.47) \quad n=6，r=0.985，s=0.297 \tag{6-88}$$

式中，I_{50}是化合物对胆碱酯酶活性抑制 50%的摩尔浓度。σ^{-}系数为正值，说明苯环对位被拉电子基团取代时，有增强抑制活性的效果。而且若用σ_{p}代替σ^{-}时，方程的相关性降低。根据σ^{-}的定义，这类化合物抑制胆碱酯酶反应的过渡态，应是产生苯氧负离子，酶被磷酰化，如图 6-12 所示。

图 6-12　磷酯与胆碱酯酶的反应过程

显然，X 为拉电子基团(σ^{-}为正值)有利于酚氧负离子的稳定化，因而抑制作用强。当包括有间位和对位取代的磷酸酯化合物时，对家蝇毒性的构效方程为：

$$\lg(1/LD_{50}) = 2.28\sigma^{-} - 1.28 \quad n=14，r=0.97，s=0.28 \tag{6-89}$$

方程(6-88)和(6-89)有相同的电性参数σ^{-}，而且系数也很相近，说明杀灭家蝇的活性是通过对胆碱酯酶的磷酰化作用实现的[48]。

6.5.5　氨基甲酸酯类在胃和肠中的吸收作用

氨基甲酸烷酯(H_2NCOOR)在胃肠道的吸收过程可用下列方程描述：

在肠道：

$$\lg k = -0.069(\lg P)^2 + 0.053\lg P - 0.855$$

$$n=13，r=0.860，s=0.080，\lg P_{\mathrm{opt}}=0.39 \tag{6-90}$$

在胃中：

$$\lg k = -0.075(\lg P)^2 + 0.251\lg P - 2.212$$

$$n=13，r=0.888，s=0.066，\lg P_{\mathrm{opt}}=1.67 \tag{6-91}$$

式中，k 是吸收速率常数，由方程(6-90)和(6-91)的常数项可以看出，化合物在肠

和胃中的吸收速度相差 20 倍以上(anti lg[−0.855 − (−2.212)])，可解释为肠黏膜的表面比胃黏膜面积大，吸收较快。此外，在胃和肠中吸收的最适分配系数分别为 1.67 和 0.39，说明胃黏膜的最佳吸收的疏水性比肠吸收的疏水性高约 20 倍。方程(6-90)和(6-91)的作图参见第 3 章图 3-8。

6.5.6　化合物穿越血脑屏障的能力

研究不同相对分子质量(MW)的化合物例如有机小分子和大到超过 1000(例如博来霉素 MW=1400)穿越大鼠血脑屏障的能力，提示穿越脑毛细血管的系数 P_c 与化合物的 lg P 和 MW 的相关性如方程(6-92)所示[49]：

$$\lg P_c = 0.50(\pm 0.10)\lg P - 1.43(\pm 0.58)\lg \mathrm{MW} - 1.84$$

$$n = 23 \quad r = 0.927 \quad s = 0.461 \qquad (6\text{-}92)$$

方程表明，分子的大小与透过血脑屏障的能力呈负相关，分子越大，透过的能力越弱；与化合物的分配系数成正相关，脂溶性越强，越有利于穿越血脑屏障。根据统计，作用于中枢神经系统的药物穿越血脑屏障的最适 lg P 值为 1.4～2.7[50]。

6.5.7　苯酞类的抗惊作用

自芹菜籽分离的 3-S-(-)-正丁基苯酞具有抗惊作用，合成的消旋体的抗惊作用更强，说明 3 位碳为 R 构型的对映体活性更高。

3S-(-)正丁基苯酞

合成的 3-取代苯酞的构效方程为：

$$\lg(1/ED_{50}) = 0.56(0.23)\lg P - 0.11(0.05)(\lg P)^2 + 2.57(0.21)$$

$$n=14,\ r=0.67,\ s=0.20,\ F_{(2,11)}=4.59 \qquad (6\text{-}93)$$

式中 ED_{50} 是化合物保护半数小鼠免于最大电休克(MES)的摩尔剂量(mol/kg)。该方程的相关性较差，主要原因是由于 3 位无取代的苯酞和 3-羟基苯酞的残差很大，实测值高于计算值。这是因为其余 12 个化合物均为消旋物，而苯酞不具手性碳；3-羟基苯酞可有如下的互变异构，如图 6-13 所示。

S-异构体　　R-异构体

图 6-13　3-羟基苯酞的互变异构

3-位两个氢原子对受体的结合作用可能没有区别；3-羟基苯酞会因互变异构可在受体部位更易结合 *R*-异构体而使互变异构不断向右移动。若用天然的 *S*-(–)丁基苯酞与合成的消旋体的活性差值，校正上述两个化合物的 ED_{50}，则得到改进的方程(6-94)：

$$\lg(1/ED_{50}) = 0.81(0.14)\lg P - 0.15(0.03)(\lg P)^2 + 2.24(0.12)$$

$$n=14，r=0.92，s=0.12，F_{(2,11)}=28.88，\lg P_{otp}=2.68 \qquad (6\text{-}94)$$

可以看出，扣除了“过量”的 *R*-异构体的贡献后，方程的显著性明显提高，揭示出苯酞类化合物抗惊作用的立体特异性。

3,6-二取代的苯酞的构效方程为：

$$\lg(1/\mathrm{ED}_{50}) = 0.87(0.23)\lg P - 0.15(0.05)(\lg P)^2 + 0.24(0.11)\mathrm{MR}_6 + 2.16(0.24)$$

$$n=25，r=0.79，s=0.27，F_{(3,21)}=11.48，\lg P_{opt}=2.90 \qquad (6\text{-}95)$$

苯酞化合物的疏水性与活性仍呈抛物线关系；6 位基团的摩尔折射的系数为正值，说明基团的极化性有利于增强活性。方程(6-95)中偏差最大的化合物 3-正丁基-6-氨基苯酞的实测值大大高于计算值，作为奇异点(outlier)被剔除后，相关性获得明显提高：

$$\lg(1/ED_{50}) = 0.76(0.17)\lg P - 0.13(0.04)(\lg P)^2 + 0.24(0.08)\mathrm{MR}_6 + 2.24(0.18)$$

$$n=24，r=0.86，s=0.20，F_{(3,20)}=18.87，\lg P_{opt}=2.92 \qquad (6\text{-}96)$$

3-正丁基-6-氨基苯酞

3-正丁基-6-氨基苯酞由于有较高的活性和较小的不良反应，对全身阵挛性癫痫患者的发作有较好的治疗效果[51]。

6.5.8　喹诺酮的抗菌作用

喹诺酮类(quinolone carboxylic acids)是强效广谱抗菌剂，因其口服吸收好，毒性低和在体内比较稳定，广泛应用于临床治疗感染性疾病。71 个同源物的构效方程如下[52]：

喹诺酮类

$$
\begin{aligned}
\lg(1/MIC) = & -0.362\ (0.25)\ (L_1)^2 + 3.036\ (2.21)\ L_1 - 2.499\ (0.55)\ (E_{s6})^2 \\
& -3.345\ (0.73)\ (E_{s6}) + 0.986\ (0.24)\ I_7 - 0.734\ (0.27)\ I_{7\text{N-CO}} \\
& -1.023\ (0.23)\ (B_{4(8)})^2 + 3.724\ (0.92)\ B_{4(8)} - 0.205\ (0.05)\ (\Sigma_{\pi 6,7,8})^2 \\
& -0.485(0.10)\ \Sigma_{\pi 6,7,8} - 0.681(0.39)\ \Sigma \mathscr{F}_{6,7,8} - 4.571
\end{aligned}
$$

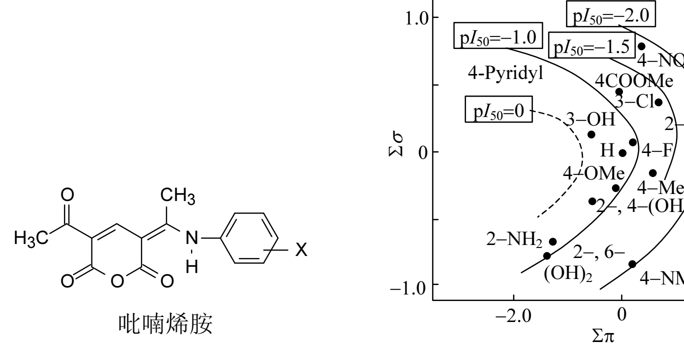
$$n=71，r=0.964，s=0.274，F_{11,59}=64.07 \qquad (6\text{-}97)$$

式中 MIC 是化合物对大肠杆菌的最低抑制浓度(mol/L)，L_1 是和母核 N_1 轴向相连的 R_1 的 STERIMOL 长度，按方程计算的最适 L_1 长度为 4.19，近似于乙基(L_1=4.11)的长度；E_{s6} 是 6 位取代基 R_6 的 Taft E_s 参数，最适的立体范围为 E_s=–0.67，相当于氟和氯原子的 E_s 范围；I_7 是 7 位取代基 R_7 的指示变量，当 R_7 为含氮杂环(如哌嗪、取代哌嗪)时，I_7=1，非含氮杂环 I_7=0，I_7 系数为 0.986，表明 7 位含哌嗪基的化合物活性比未含此杂环的相应化合物活性大约强 10 倍；指示变量 $I_{7\text{N-CO}}$ 是指若哌嗪的 N^4 未被酰化，$I_{7\text{N-CO}}$=0，被酰化则 $I_{7\text{N-CO}}$=l，该变量的系数为–0.734，说明 N^4 被酰化会降低抗菌活性；$B_{4(8)}$是指 8 位取代基 R_8 的 STERIMOL B_4 值(基团横断面由键合点到基团边缘的最大宽度)，最适 B_4 为 1.82，接近于氯原子或甲基的 B_4 值；$\sum\pi_{6,7,8}$ 是取代基 R_6、R_7 和 R_8 疏水性之和，因与 lg P 呈共线性(0.92)，表明整个分子的疏水性对活性有重要影响，最适$\sum\pi_{6,7,8}$ 值为–1.18，提示亲水性基团有利于转运和抑制作用；$\sum\mathscr{F}_{6,7,8}$ 的系数为–0.681，意味着 R_6、R_7 和 R_8 的诱导性推电子作用对 4 位酮基的影响，会有利于同受体结合而增强活性。根据以上的分析，如下的化合物诺氟沙星(norfloxacin)和氧氟沙星(ofloxacin)已研制成临床应用的强效抗菌剂。

氧氟沙星　　诺氟沙星

6.5.9　抗过敏药物吡喃烯胺的设计

吡喃烯胺类(pyranenamines)抗过敏药物的研究是应用定量构效关系的典型范例[53]。以吡喃烯胺(X=H)为先导化合物，按 Topliss 决策法(见第 11 章)，合成了 17 个苯环上不同取代的类似物，将活性(pI_{50}，大鼠静脉注射)与取代基疏水常数 π 和电性常数σ三维作图，得图 6-14。



吡喃烯胺

图 6-14　吡喃烯胺类抗过敏作用与取代基电性和疏水性的关系

图中的曲线是活性的等高线。左侧的等高线的活性高于右侧的化合物，显然，具有低疏水性和中性化合物的结构特征活性较高，因而预测了 2-羟基-5-乙酰胺基和 3-乙酰胺基-4-羟基化合物应有较高活性，实验证明这种预测是正确的。19 个化合物的构效方程为：

$$\lg(1/I_{50}) = -0.14(0.29)\Sigma\pi - 1.35(0.98)(\Sigma\sigma)^2 - 0.72(5-98)$$

$$n = 19, r = 0.69, s = 0.47, F_{(2,16)} = 7.3 \qquad (6\text{-}98)$$

该方程质量较差，例如相关系数较低，$\Sigma\pi$ 项未通过显著性检验。但 F 检验表明高于 99%水平上该方程是显著的。方程表明亲水性基团对增强活性有利；$(\Sigma\sigma)^2$ 项系数为负值，即活性与 Hammett 电性参数呈双相关系(biphase)，这种双相关系常见于多步反应过程，随芳香环上取代基电性的增加决速步骤发生了变化。进一步合成 42 个单取代和双取代的化合物，得：

$$\lg(1/I_{50}) = -0.30(0.12)\Sigma\pi - 1.50(0.67)(\Sigma\sigma)^2 + 2.00(2.00)\mathscr{F}_5 + 0.39(0.22)\#345\text{HBD}$$
$$- 0.63(0.33)\#\text{NHSO}_2 + 0.78(0.46)\text{MV} + 0.72(0.31)\text{CO}_{2-4} - 0.75$$

$$n = 61, r = 0.88, s = 0.40, F_{(7,53)} = 25.1 \tag{6-99}$$

$\mathscr{F}_5$是 5-位取代基的 Swain-Lupton 诱导电性参数；#345HBD 是指在 3,4 或(和)5 位取代基生成氢键能力(即数目)的指示变量，赋值为 0、1、2 或 3；指示变量#$NHSO_2$是指含有-$NHSO_2$-片段的数目；MV 为 3 位和 5 位取代基的摩尔体积之和；参数$CO_{2\text{-}4}$是 4 位是否存在-O(CO)-基的指示变量。该方程表明将吡喃烯胺的亚结构特征分开后，$\Sigma\pi$ 和$(\Sigma\sigma)^2$ 项均变得显著了。

方程(6-99)的$\Sigma\pi$ 为一次项，最低$\Sigma\pi$ 值为–1.94，再合成更亲水性化合物，使$\Sigma\pi$ 低于–6.20(3,5-[NHCO(CHOH)$_2$H]$_2$)和–10.00(3,5-(NHCOCO$_2^-$)$_2$)，得到如下含 98 个化合物的构效方程：

$$\lg(1/I_{50}) = -0.33(0.11)\Sigma\pi - 0.034(0.016)(\Sigma\pi)^2 - 1.70(0.62)(\Sigma\sigma)^2$$
$$+ 4.3(1.6)\mathscr{F}_{-5} + 1.3(0.85)R_{-5} + 0.73(0.22)\#345\text{HBD} - 0.84(0.34)\#\text{HB}_{\text{intra}}$$
$$- 0.69(0.28)\#\text{NHSO}_2 + 0.72(0.35)\text{CO}_2 - 4 - 0.59$$

$$n = 98,\ r = 0.87,\ s = 0.48,\ F_{(9,88)} = 28.7 \tag{6-100}$$

此时$(\Sigma\pi)^2$是显著的，最适$\Sigma\pi$ 值为–5.0，表明苯环上强亲水性基团有利于抑制作用(10 万倍于疏水性)；5 位取代基的 Swain-Lupton 诱导和共振电性效应对活性都有影响，系数均为正值，因而应选择 5 位取代基使其电性效应对活性贡献最大；#345HBD 的系数为 0.73，表明每增加 1 个可形成氢键的基团，活性增大 5 倍，但若可形成分子内氢键，则活性降低 8 倍，这是因为指示变量#HB_{intra}的系数为–0.84。

含二甘油酸酰胺的化合物活性最高 pI_{50}=3.0，这两个取代基是强亲水性基团($\Sigma\pi$=–6.20)，可生成 2 个分子间氢键，但因处于间位不能形成分子内氢键；$(\Sigma\sigma)^2$值为 0.14，接近于 0，因而该化合物的所有这些特征都满足了构效方程所提示的呈现最大活性的要求，动物试验静脉注射显示最大活性，但口服效果却逊于氨基酚化合物(pI_{50}(iv)=0.1)，可能是分子极性过大的缘故。氨基酚化合物已进行了临床研究。

二甘油酸酰胺化合物　　　　氨基酚化合物

6.5.10 三嗪化合物的抗白血病作用

二氢叶酸还原酶(DHFR)是催化二氢叶酸还原成四氢叶酸的反应，后者是合成DNA碱基胸腺嘧啶的必需辅因子。因此，研究DHFR的抑制剂是寻找抗癌药物的一个途径。4,6-二氨基-1,2-二氢-2,2-二甲基-l-(取代苯基)-均三嗪(简称三嗪)是一类DHFR抑制剂[54]。

三嗪化合物

三嗪对甲氨蝶呤(MTX)抗药的白血病细胞L 1210的DHFR抑制作用的构效关系为(6-101)和(6-102)：

3-X-三嗪类：

$$\mathrm{p}K_{\mathrm{i}} = 0.98(0.14)\pi' - 1.14(0.20)\lg(\beta \cdot 10^{\pi'} + 1) + 0.79(0.57)\sigma + 6.12(0.14)$$

$$n = 58, r = 0.900, s = 0.265, \pi_{\mathrm{opt}} = 1.76, \lg\beta = -0.979 \tag{6-101}$$

4-X-三嗪类：

$$\begin{aligned}\mathrm{p}K_{\mathrm{i}} = {} & 0.76(0.15)\pi' - 0.83(0.28)\lg(\beta \cdot 10^{\pi'} + 1) + 0.70(0.25)I \\ & - 0.40(0.26)\mathrm{MR}_2 + 6.47(0.22)\end{aligned}$$

$$n = 37, r = 0.959, s = 0.263, \pi_{\mathrm{opt}} = 2.11, \lg\beta = -1.10 \tag{6-102}$$

式中，K_i 为表观抑制常数(mol/dm^3)；π'的定义是当 X 取代基为$-CH_2Z-C_6H-Y$ 或$-ZCH_2-C_6H_4-Y$(Z=O, S, Se)时，π_Y 值为零，即凡存在该基团时，Y是亲水或亲脂性或有或无立体障碍均对 K_i 无影响，因而Y可能未与DHFR酶表面接触。方程(6-102)的指示变量的定义是当4位有桥键$-CH_2$，ZC_6H_4Y 或$-ZCH_2C_6H_4Y$ 时，I 赋值为1，否则为零，这表明对位有这种基团时，与酶的结合作用很强(5倍于无此基团的相应化合物)，这可能是在 DHFR 所处的位置与叶酸的对氨基苯甲酰片段相同的缘故；MR_2 是指4位参与结合的原子或基团的摩尔折射，例如 OCH_2Ph 的 MR_2 等于 OCH_2 的值；π 值与活性的变化呈双直线关系，随疏水性增加，活性呈线性增高，到最适值后，疏水性增高，活性呈线性降低。3 位取代的三嗪，活性上升的斜率近于 1(0.98)，下降的斜率近于零(0.98–1.14=–0.16)，这种较平坦的双直线模型表明 3 位取代的较大的基团未与酶表面接触；4 位取代的三嗪情况大致相似，只是

下降部分的斜率更近于零(0.76−0.83=−0.07)。MR_2 项系数为负值，说明对位取代基的α和β部位与酶存在立体相互作用，对活性产生不利影响。计算机图形学研究表明，4 位取代基可能与酶的 Ile60 有不利的立体相互作用。

对于 MTX 抗药的 L 1210 细胞的生长抑制作用可用方程(6-103)和(6-104)表征：

3-X-三嗪类：

$$\mathrm{p}I_{50} = 0.42(0.05)\pi - 0.15(0.05)\mathrm{MR} + 4.83(0.11)$$

$$n = 62,\ r = 0.941,\ s = 0.220 \tag{6-103}$$

4-X-三嗪类：

$$\mathrm{p}I_{50} = 0.46(0.07)\pi\text{-}0.47(0.31)\lg(\beta 10^{\pi} + 1) + 4.29(0.13)(5 - 104)$$

$$n = 41,\ r = 0.935,\ s = 0.330,\ \pi_{\mathrm{opt}} = 6.18, \lg\beta = -4.54 \tag{6-104}$$

方程显示对细胞生长的抑制作用与抑制 DHFR 酶不同，特别是疏水项，例如 3-取代的疏水性与活性呈直线关系，未出现 π_{opt}；4-取代的三嗪 π_{opt} 为 6.18，比抑制酶的 π_{opt} 高 4 个对数单位，这说明为抑制对 MTX 有抗药性的白血病细胞，需要疏水性更强的化合物，而且，不能忽视在$-CH_2$，ZC_6H_4Y 或$-ZCH_2C_6H_4Y$ 中 Y 的疏水贡献，这可解释为穿越亲脂性的细胞膜和在胞浆内扩散到 DHFR 表面，整个分子的亲脂性是很重要的。

6.5.11　比较定量构效关系

经典的 Hansch-藤田方程，是以生物活性(包括毒性)为因变量，用表征结构的线性自由能相关的性质作为自变量，进行统计学分析得到的。用离体和在体评价药物的生物活性，可以得到不同层次的活性特征，例如分子水平(酶或受体)、细胞水平(微生物或组织培养)、器官和整体水平等，这些活性之间应当有内在的关联。如果说对酶或受体的抑制作用是直接表征了药物与靶标的作用强度，那么药物对细胞或器官的抑制(或激动)作用包含有穿越细胞膜和在胞浆中的移行，以及对靶标分子的作用，而整体试验还有分布、代谢和消除等环节，整体动物的活性数据整合了药物的药效活性和药代动力学行为。如果一组化合物的活性包括了上述不同层次的作用，笔者认为可将一种活性(例如分子水平)与物化参数共同作为自变量，与细胞或整体动物的活性作为因变量进行相关分析，得到的方程可揭示出药物呈现药效前过膜、吸收或转运过程与化学结构之间的关系，这就是比较定量构效关系[55] (comparative QSAR)。研究比较定量构效关系的前提除前已述及的规则外，还需确保对细胞、器官或整体动物的活性是由于作用于相同靶标分子的

结果。

三嗪类化合物具有抑制肿瘤生长活性，研究表明是由于抑制二氢叶酸还原酶(DHFR)所致。笔者用比较定量构效关系方法研究了三嗪对 DHFR 酶的抑制活性(K_i)和对甲氨蝶呤敏感株(c_s)和耐药株(c_r)细胞的抑制活性，得到方程(6-105)和(6-106)：

$$\lg(1/c_s) = 0.25(\pm 0.13)\pi - 0.05(\pm 0.02)\pi^2 + 1.02(\pm 0.21)\lg(1/K_i) + 1.15(\pm 0.73)$$

$$n = 24,\ s = 0.258,\ r = 0.968,\ F_{(3,20)} = 99.19,\ \pi_0 = 2.34 \qquad (6\text{-}105)$$

$$\lg(1/c_r) = 0.26(\pm 0.08)\pi + 0.64(\pm 0.29)\lg(1/K_i) + 1.29(\pm 1.04)$$

$$n = 24,\ s = 0.332,\ r = 0.953,\ F_{(2,21)} = 103.9 \qquad (6\text{-}106)$$

对敏感细胞株的抑制活性与对 DHFR 酶的抑制活性成正相关，系数为 1.02，表明所研究的化合物的结构变化对细胞与酶的抑制作用影响是相同的(斜率为 1)，方程中的 π 及其平方项，提示 R 基团的疏水性参与了对细胞的作用，亦即对酶的抑制加上一定的疏水性(穿越细胞膜的需要)，可表征三嗪化合物抑制敏感株细胞的作用。

同样的化合物对耐药细胞株的作用显示与酶的抑制活性和疏水性 π 也呈正相关，但 lg ($1/K_i$)的系数为 0.64，表明结构的变化对耐药细胞的抑制的影响是对 DHFR 酶抑制作用的 0.64 倍，即耐药株对这些化合物的不敏感性。此外，疏水性 π 只有一次项，说明在所研究的化合物疏水作用的范围内，与抑制活性呈线性关系，与敏感株的抛物线关系不同，提示为抑制耐药株细胞，化合物需有更强的亲脂性。方程(6-107)表明了化合物对耐药株与敏感株细胞抑制作用的关系，敏感株活性需加入正系数的疏水项，方能表征化合物对耐药株的抑制作用[方程(6-108)]。

$$\lg(1/c_r) = 1.00(\pm 0.56)\lg(1/c_s) - 0.87(\pm 2.86)$$

$$n = 22,\ s = 0.858,\ r = 0.641,\ F_{(1,20)} = 13.95 \qquad (6\text{-}107)$$

$$\lg(1/c_r) = 0.34(\pm 0.09)\pi + 0.38(\pm 0.32)\lg(1/c_s) + 1.67(\pm 1.58)$$

$$n = 22,\ s = 0.428,\ r = 0.928,\ F_{(2,19)} = 58.94 \qquad (6\text{-}108)$$

6.6　Free-Wilson 模型

上面讨论的线性自由能相关模型是以药物分子的物理化学参数表征药物的结构，并用来解析药物作用的变化规律，因而在化合物中选择和提取有意义的物化参数是运用 Hansch 分析的重要环节。无论是分子的整体性质，如分配系数，pK_a 或偶极矩等，或者分子局部的某些特征，如基因疏水参数或立体参数等，都可以作为结构的特征，用以研究与生物活性的变化规律。系列化合物的同源性(congenerity)的要求并非十分严格，在一定范围内结构变化的自由度较大。

Free-Wilson 模型也是一种数学模型，是 Free 和 Wilson 与 Hansch-藤田几乎同时提出的另一种研究结构与活性关系的方法[4]。这种方法由生物学数据推导出的一组化合物的各个基团贡献，犹如一系列指示变量，表征分子结构中不同位置上不同基团是否对活性有影响或影响活性的强度。进行 Free-Wilson 分析的所有化合物应有严格的同源关系，即有相同的母体结构骨架，各取代基之间是独立的，不应有相互作用，例如氢键、共轭、共振或立体障碍等。

6.6.1　经典的 Free-Wilson 模型

Free-Wilson 模型的基本原理是基团对活性贡献具有加和性。认为在有相同母体结构的各化合物中的取代基对生物活性的贡献是恒定的，有加和性的，与分子的其他部位的基团变化无关。同源系列中的每一个化合物的生物活性 BA_i 是母体结构对生物活性贡献 μ 与取代基对活性贡献 a_{jk} 之和，k 为取代基的性质，j 为取代基所在的位置，如式(6-109)：

$$\lg \mathrm{BA}_i = \sum a_{jk} X_{jk} + \mu \tag{6-109}$$

式中 X_{jk} 是当基团 X_k 在 j 位置上存在时赋值为 1，j 位置无 X_k 时为零。若 BA 用摩尔剂量或浓度的倒数表示，如 $1/c$，$1/ED_{50}$，增加活性的取代基的 a_{jk} 为正值，使活性降低的取代基 a_{jk} 为负值。

Free-Wilson 模型规定，每个取代位置应满足对称条件，即系列中所有化合物在每个位置 j 上的基团对活性贡献 a_{jk} 的总和为零[式(6-110)]。由式(6-109)和式(6-110)可知，μ 应是所有化合物的活性平均值[式(6-111)]：

$$\sum_i a_{jk} X_{jk} = 0 \tag{6-110}$$

$$\mu = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i} \lg \mathrm{BA}_i \tag{6-111}$$

该模型的计算方法可举 *N*,*N*-二甲基-*α*-溴代苯乙胺的抗肾上腺能作用为例加以说明。表 6-12 列出了 22 个化合物和 12 个变量的结构矩阵，取代基 X 的有和无分别用 1 和空白表示。该表相当于方程组(6-112)，例如方程(6-113)相当于化合物 No.1，方程(6-114)相当于 No.17，a_{11}，a_{13}，a_{22} 和 a_{24} 分别是 *m*-H，*m*-Cl，*p*-F 和 *p*-Br 的活性贡献。

表 6-12　*N*,*N*-二甲基-*α*-溴代苯乙胺结构、结构矩阵和 lg(1/*c*)值

(X, Y 取代苯环)—CH(Br)–CH$_2$–N(CH$_3$)$_2$ HCl

No.	X	Y	间位取代基(X)						对位取代基(Y)						lg(1/*c*)*
			H	F	Cl	Br	I	Me	H	F	Cl	Br	I	Me	
1	H	F	1							1					8.16
2	H	Cl	1								1				8.68
3	H	Br	1									1			8.89
4	H	I	1										1		9.25
5	H	Me	1											1	9.30
6	F	H		1					1						7.52
7	Cl	H			1				1						8.16
8	Br	H				1			1						8.30
9	I	H					1		1						8.40
10	Me	H						1	1						8.46
11	Cl	F			1					1					8.19
12	Br	F				1				1					8.57
13	Me	F						1		1					8.82
14	Cl	Cl			1						1				8.89
15	Br	Cl				1					1				8.92
16	Me	Cl						1			1				8.96
17	Cl	Br			1							1			9.00
18	Br	Br				1						1			9.35

续表

No.	X	Y	间位取代基(X)					对位取代基(Y)							$\lg(1/c)^*$
			H	F	Cl	Br	I	Me	H	F	Cl	Br	I	Me	
19	Me	Br						1				1			9.22
20	Me	Me						1						1	9.30
21	Br	Me				1								1	9.52
22	H	H	1						1						7.46
总和			6	1	4	5	1	5	6	4	4	4	1	3	191.32

$*c = ED_{50}(\mathrm{mol/kg})$ 。

$$\lg 1/c = a_{1k}[X_k] + a_{2k}[Y_k] + \mu \tag{6-112}$$

$$\lg 1/c = a_{11} + a_{22} + \mu \tag{6-113}$$

$$\lg 1/c = a_{13} + a_{24} + \mu \tag{6-114}$$

因而有 22 个方程，方程中包括 12 个变量(即 a_{jk} 值)和常数项μ。显然，该方程组不可能对变量求出唯一解。由于在每个位置上永远只有一个取代基，所以在所有方程中每个取代位置的 X_{jk} 值的总和为 1(方程 6-115 和 6-116)。根据对称方程(又称限制方程)(6-110)，可将每个位置上的一个变量用另一变量代入。这样，本例的对称方程为(6-117)和(6-118)，由此可以推导出例如间位氢和对位氢的活性贡献与间位和对位其他取代基贡献的关系式(6-119)和(6-120)。

$$[m\text{-H}] + [m\text{-F}] + [m\text{-Cl}] + [m\text{-Br}] + [m\text{-I}] + [m\text{-CH}_3] = 1 \tag{6-115}$$

$$[p\text{-H}] + [p\text{-F}] + [p\text{-Cl}] + [p\text{-Br}] + [p\text{-I}] + [p\text{-CH}_3] = 1 \tag{6-116}$$

$$6a_{11} + a_{12} + 4a_{13} + 5a_{14} + a_{15} + 5a_{16} = 0 \tag{6-117}$$

$$a_{21} + 4a_{22} + 4a_{23} + 4a_{24} + a_{25} + 3a_{26} = 0 \tag{6-118}$$

$$a_{11} = -(1/6)a_{12} - (2/3)a_{13} - (5/6)a_{14} - (1/6)a_{15} - (5/6)a_{16} \tag{6-119}$$

$$a_{21} = -(2/3)a_{22} - (2/3)a_{23} - (2/3)a_{24} - (1/6)a_{25} - (1/2)a_{26} \tag{6-120}$$

剔除间位氢和对位氢两列后，产生新的结构矩阵表。表 6-13 表示的是经典的 Free-Wilson 数据矩阵，不再包含有线性相关性，因而可用多重回归求解，得到的方程(6-117)中缺少 *m*-H 和 *p*-H 项，再根据(6-119)和(6-120)求出 a_{11}=–0,252，a_{12}=–0.623。方程(6-121)是唯一解。若剔除 *m*-F 和 *p*-I 两例，进行同样的操作，这两个基团的活性贡献与其他基团的关系如式(6-122)和(6-123)所示。

表 6-13　*N*,*N*-二甲基-*α*-溴代苯乙胺的抗肾上腺能活性和用于回归分析的数据矩阵

No.	间位取代基(X)					对位取代基(Y)					lg(l/*c*)
	F	Cl	Br	I	Me	F	Cl	Br	I	Me	
1	−1/6	−2/3	−5/6	−1/6	−5/6	1					8.16
2	−1/6	−2/3	−5/6	−1/6	−5/6		1				8.68
3	−1/6	−2/3	−5/6	−1/6	−5/6			1			8.89
4	−1/6	−2/3	−5/6	−1/6	−5/6				1		9.25
5	−1/6	−2/3	−5/6	−1/6	−5/6					1	9.30
6	1					−2/3	−2/3	−2/3	−1/6	−1/2	7.52
7		1				−2/3	−2/3	−2/3	−1/6	−1/2	8.16
8			1			−2/3	−2/3	−2/3	−1/6	−1/2	8.30
9				1		−2/3	−2/3	−2/3	−1/6	−1/2	8.40
10					1	−2/3	−2/3	−2/3	−1/6	−1/2	8.46
11		1				1					8.19
12			1			1					8.57
13					1	1					8.82
14		1					1				8.89
15			1				1				8.92
16					1		1				8.96
17		1						1			9.00
18			1					1			9.35
19					1			1			9.22
20					1					1	9.30
21			1							1	9.52
22	−1/6	−2/3	−5/6	−1/6	−5/6	−2/3	−2/3	−2/3	−1/6	−1/2	7.46
总和	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	191.32

$$\begin{aligned}\lg 1/c = & -0.533(0.45)[m\text{-F}] - 0.045(0.20)[m\text{-Cl}] + 0.182(0.17)[m\text{-Br}] \\ & + 0.327(0.45)[m\text{-I}] + 0.202(0.17)[m\text{-CH}_3] - 0.283(0.20)[p\text{-F}] \\ & + 0.144(0.20)[p\text{-Cl}] + 0.397(0.20)[p\text{-Br}] + 0.806(0.45)[p\text{-I}] \\ & + 0.633(0.24)[p\text{-CH}_3] + 8.696(0.09)\end{aligned}$$

$$n = 22,\ r = 0.969,\ s = 0.194,\ F_{(10,11)} = 16.99 \tag{6-121}$$

$$a_{12} = -6a_{11} - 4a_{13} - 5a_{14} - a_{15} - 5a_{16} \tag{6-122}$$

$$a_{25} = -6a_{21} - 4a_{22} - 4a_{23} - 4a_{24} - 3a_{26} \tag{6-123}$$

得到回归方程(6-124)，它和方程(6-121)的区别是没有[*m*-F]和[*p*-I]项，出现有[*m*-H]和[*p*-H]项，其他项的系数以及常数项和统计学参数均相同。由(6-124)的系数代入到(6-122)和(6-123)，求出 a_{12}=–0.533 和 a_{25}= 0.806，与方程(6-121)完全一致。

$$\begin{aligned} \lg 1/c = & -0.252(0.16)[m\text{-H}] - 0.045(0.20)[m\text{-Cl}] + 0.182(0.17)[m\text{-Br}] \\ & + 0.327(0.45)[m\text{-I}] + 0.202(0.17)[m\text{-CH}_3] - 0.623(0.17)[p\text{-H}] \\ & - 0.283(0.20)[p\text{-F}] + 0.144(0.20)[p\text{-Cl}] + 0.397(0.20)[p\text{-Br}] \\ & + 0.633(0.24)[p\text{-CH}_3] + 8.696(0.09) \end{aligned}$$

$$n = 22,\ r = 0.969,\ s = 0.194,\ F_{(10,11)} = 16.99 \tag{6-124}$$

各个化合物活性的计算值按方程(6-122)求出，例如化合物 1 和 17 分别由式(6-125)和(6-126)计算出：

$$\lg 1/c_{\text{H.F}} = a_{11} + a_{22} + \mu = -0.252 - 0.283 + 8.696 = 8.161 \tag{6-125}$$

$$\lg 1/c_{\text{Cl.Br}} = a_{13} + a_{24} + \mu = -0.045 + 0.397 + 8.696 = 9.048 \tag{6-126}$$

表 6-14 列出了 22 个化合物的观测值、计算值和残差。Free-Wilson 方程具有预测性，例如 *m*-I 和 *p*-I 化合物活性为 9.83，高于所有化合物的活性。当然预测的基团和位置只限于在间、对位的这六种取代基的组合。

表 6-14　*N*,*N*-二甲基-*α*-溴代苯乙胺抗肾上腺能活性的观测值和计算值

No.	X	Y	lg(l/*c*)		残差
			观测值	计算值	$y_{\text{obs}} - y_{\text{calc}}$
1	H	F	8.16	8.161	–0.001
2	H	Cl	8.68	8.589	0.091
3	H	Br	8.89	8.841	0.049
4	H	I	9.25	9.250	0.000
5	H	Me	9.30	9.077	0.223
6	F	H	7.52	7.520	0.000
7	Cl	H	8.16	8.028	0.132
8	Br	H	8.30	8.255	0.045
9	I	H	8.40	8.400	0.000
10	Me	H	8.46	8.275	0.185
11	Cl	F	8.19	8.368	–0.178

续表

No.	X	Y	lg(1/c)		残差
			观测值	计算值	$y_{obs}-y_{calc}$
12	Br	F	8.57	8.595	−0.025
13	Me	F	8.82	8.615	0.205
14	Cl	Cl	8.89	8.796	0.094
15	Br	Cl	8.92	9.023	−0.103
16	Me	Cl	8.96	9.043	−0.083
17	Cl	Br	9.00	9.048	−0.048
18	Br	Br	9.35	9.275	0.075
19	Me	Br	9.22	9.295	−0.075
20	Me	Me	9.30	9.531	−0.231
21	Br	Me	9.52	9.511	0.009
22	H	H	7.46	7.921	−0.361

6.6.2 Fujita-Ban 改良模型

Fujita 和 Ban 把所有位置的氢取代的活性贡献作为零，常数项μ应是未取代的母体化合物的计算活性，各个位置的基团活性贡献 b_{jk} 都是相对于氢的贡献，该模型为：

$$\lg \mathrm{BA}_i = \sum_j b_{jk} X_{1k} + \mu \tag{6-127}$$

这种改良模型使计算简单化了，因为所有活性贡献 b_{jk} 都是相当于 $b_{j\mathrm{H}}=0$，故各个取代位置的氢取代都可剔除，得到的结构矩阵(表 6-15)不会出现线性依赖性，因而无需对称方程，可直接进行多重回归处理。计算结果为方程(6-128)，统计学参数 r、s 和 F 值以及活性计算值均与经典法相同[56]。

$$\begin{aligned}\lg 1/c = &-0.301(0.50)[m\text{-F}]+0.207(0.29)[m\text{-Cl}]+0.434(0.27)[m\text{-Br}]\\&+0.579(0.50)[m\text{-I}]+0.454(0.27)[m\text{-CH}_3]+0.340(0.30)[p\text{-F}]\\&+0.768(0.30)[p\text{-Cl}]+1.020(0.30)[p\text{-Br}]+1.429(0.50)[p\text{-I}]\\&+1.256(0.33)[p\text{-CH}_3]+7.821(0.27)\end{aligned}$$

$$n=22,\ r=0.969,\ s=0.194,\ F_{(10,11)}=16.99 \tag{6-128}$$

表 6-15　*N*,*N*-二甲基-α-溴代苯乙胺抗肾上腺能化合物的 Fujita-Ban 结构矩阵

No.	间位取代基(X)					对位取代基(Y)					lg(l/*c*)
	F	Cl	Br	I	Me	F	Cl	Br	I	Me	
1						1					8.16
2							1				8.68
3								1			8.89
4									1		9.25
5										1	9.30
6	1										7.52
7		1									8.16
8			1								8.30
9				1							8.40
10					1						8.46
11		1				1					8.19
12			1			1					8.57
13					1	1					8.82
14		1					1				8.89
15			1				1				8.92
16					1		1				8.96
17		1						1			9.00
18			1					1			9.35
19					1			1			9.22
20					1					1	9.30
21			1							1	9.52
22											7.46

作为 Fujita-Ban 改良模型的参比化合物可以任意指定，只要在系列中含有该参比物的取代基，而不必限于未取代的母体物，甚至未包括在已有活性的化合物也可。例如上例中用 3-氟-4-碘化合物为参比物，则 $b_{m\text{-F}}$=0.6，$b_{p\text{-I}}$=0，μ=计算的 3-氟-4-碘化合物的活性，得到的方程(6-129)的统计学参数和由方程计算出的活性值与方程(6-128)完全一致。

$$\begin{aligned}\lg 1/c = &0.301(0.50)[m\text{-H}]+0.508(0.51)[m\text{-Cl}]+0.735(0.50)[m\text{-Br}]\\&+0.880(0.60)[m\text{-I}]+0.755(0.50)[m\text{-CH}_3]-1.429(0.50)[p\text{-H}]\\&-1.089(0.50)[p\text{-F}]-0.661(0.50)[p\text{-Cl}]-0.409(0.50)[p\text{-Br}]\\&-0.173(0.52)[p\text{-CH}_3]+8.949(0.66)\end{aligned}$$

$$n=22,\ r=0.969,\ s=0.194,\ F_{(10,11)}=16.99 \tag{6-129}$$

Free-Wilson 和 Fujita-Ban 模型作为数学方法，求出的方程只限于描述该系列化合物各取代位置的基团对活性的影响，因而不能扩展到未研究过的取代基和取代位置，而且化合物要严格地限于相同的母体骨架上固定位置的基团变换，这是该法的局限性。此外，化合物的数目要大于取代基的数目，至少要多于 5 倍，以保障统计学的显著性，每个取代位置上某取代基出现的次数不应低于两次，各个取代基在某位置上出现次数宜大体相同。这样，得到的模型才有意义。

6.7　三维定量构效关系

药物分子与受体间的相互作用是在三维空间中进行的，定量地描述三维结构与生物活性间的关系，需要对药物分子乃至受体分子的立体结构和药效构象有精确的表达。Hansch-藤田分析法采用的物理化学参数虽然涉及整体分子的结构与性质，但基本上是处理化合物的二维结构，把分子视作平面，以致在研究构效关系时遇到构型(如光学异构和几何异构)和构象问题的困扰，这是显而易见的。而且在应用方面主要针对先导化合物的优化，即在已知母体结构的基础上作基团的变换，进行同源物的设计与研究，难以创制崭新和未知药效的母体结构，即发现先导化合物。

三维定量构效关系(3D-QSAR)是以药物分子的三维结构特征为基础，处理结构中静电分布、立体性、氢键和疏水性与生物活性之间的定量依存关系。3D-QSAR 与 Hansch-藤田分析不同，不需要预先测定或计算化合物的物理化学性质或基团取代基常数，而是考察整体分子的性质。只要化合物与受体靶标的相同位点结合，就可以研究 3D-QSAR，而不拘泥和要求结构骨架相同，这与 Hansch-藤田分析的化合物样本有相同的结构骨架要求是不同的。3D-QSAR 不仅能够优化先导物，而且可以设计和发现先导化合物。然而，尽管有这些不同，经典的 Hansch-藤田分析与 3D-QSAR 的仍有许多共同之处，都是以能量变化为依据，所描述的特征既类似又相互补充。

6.7.1　三维定量构效关系的一般特征

三维定量构效关系虽然有多种研究方法，但在操作程序上具有普遍和共同的特征，即药效构象的确定，分子结构的叠合，三维性质的计算，以及定量模型的生成和确定。研究分子构象的最常用的计算方法是分子力学。

6.7.1.1　分子力学

分子力学(molecular mechanics)是以经典牛顿力学为基础的一种计算方法，用经验性的能量函数和参数评价孤立分子或处于相互作用分子系统的势能，该势能是分子中诸原子坐标的函数，因而通过分子力学计算和能量最低化操作，可对化合物的空间结构(构型或构象)加以确定。在药物研究中，当受体结构已知时，分子力学方法可以用来计算药物-受体结合的能量；若受体结构未知时，该方法可通过确定药物分子的最低能量构象，经与活性相关操作，映射出与药效团相互作用的受体拓扑结构(receptor mapping)。

在分子力学计算中，所用力场的总能量可用式(6-130)表示：

$$总能量\ E = E_{键长} + E_{键角} + E_{两面角} + E_{范德华} + E_{氢键} + E_{静电} \tag{6-130}$$

$E_{键长}$是与共价键长相关的能量项，表征键长对分子能量的贡献。其计算方法如式(6-131)所示。分子中两原子间距离 r 若与平衡距离 r_0 相差越大，对于能量越不利。r_0 是晶态结构中的键长，K_b 是各化学键特定的力常数。

$$E_{键长} = \sum K_b(r - r_0)^2 \tag{6-131}$$

$E_{键角}$是与键角的弯曲相关的能量项，表征键角对能量的影响，按照式(6-132)计算。θ 是键角，θ_0 是平衡态的键角，K_a 是各键角的力常数。在有机分子中有张力的键角比无张力的键角相差不超过 15°。

$$E_{键角} = \sum K_a\,(\theta - \theta_0)^2 \tag{6-132}$$

$E_{两面角}$是与键扭转势垒(torsion barrier)相关的能量项。在饱和分子中的扭转势垒是由于电子的离域化造成参差构象产生能阱(energy well)造成的。双键或三键的扭转势垒是非常大的。式(6-133)是键扭角势能的计算公式，式中 n 是势垒的周期性，φ 为两面角，r 为相补偿(phase offset)，K_d 是与势垒高度有关的常数。

$$E_{两面角} = \sum 1/2\,[K_d[1 + \cos(n\varphi - r)]] \tag{6-133}$$

$E_{范德华}$是表征两个非键合原子间范德华相互作用的能量项。式(6-134)中 r 是两

个原子核间的实际距离，r_0是原子核间作用能量最低的距离，ε是在最低能量时势能阱的深度。

$$E_{范德华} = \sum \varepsilon \left[\left(\frac{r_0}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_0}{r} \right)^{6} \right] \tag{6-134}$$

$E_{氢键}$是形成分子内或分子间氢键的能量项。式(6-135)中 C_{ij}和 D_{ij}分别是势能阱深函数和氢给体与氢接受体相互作用呈平衡状态时的距离，r_{ij} 是氢给体和氢接受体间的实际距离。

$$E_{氢键} = \sum \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) \tag{6-135}$$

$E_{静电}$是两个电荷相互作用的能量项。式(6-136)中 q_i和 q_j是原子 i 和 j 的部分电荷量，r_{ij}是电荷间距离，ε为介电常数。

$$E_{静电} = \sum q_i q_j / \varepsilon r_{ij} \tag{6-136}$$

$E_{偶极}$是分子内或分子间偶极-偶极相互作用的能量项。式(6-137)中 μ_i和 μ_j是两个偶极的偶极矩，χ是两个偶极向量的夹角，α_i和α_j分别是两个偶极与连接这两个偶极向量的夹角。

$$E_{偶极} = \sum \frac{\mu_i \mu_j}{\varepsilon r_{ij}^3} (\cos \chi - 3 \cos \alpha_i \cos \alpha_j) \tag{6-137}$$

得到的势能和作为原子核坐标函数的原子经受的作用力，可用于计算单个分子固定构象的势能，并可绘制分子在各个方向的能量图。然而，我们通常希望确定分子低能量的构象，就需要在势能超平面上找到最低值，为此需要用优化的方法，常用一阶导数、二阶导数或蒙特卡罗(Monte Cardo)法计算。在优化过程中，分子会遇到势能超平面的局部最低能量构象(local minimum energy)，但未必能保障这是分子的最低能量构象。分子中可旋转的键数较少时，可以对所有的构象空间作全部搜寻；但可旋转键数目增多，就难以进行全部搜寻，此时需要“砍掉”那些因立体障碍不能达到的搜取区域。

6.7.1.2　药效构象的确定和叠合

3D-QSAR 分析方法的前提是所研究的药物被同一受体识别和结合，对药物的三维结构进行叠合也以此为依据。在 2D-QSAR 分析中，虽没有叠合操作，但隐含在同源物的相同骨架之中。药效构象的选定及其叠合规则是 3D-QSAR 的困难

步骤，这是因为药效构象未必是通过计算或实验测定得到的整体分子最低能量构象[57]。为此，常常选择至少一个刚性的活性化合物作为参比物质，成为分析的切入点，但这种选择应使所研究化合物样本之间相互匹配平衡。

三维结构的叠合要求药效团的相同分布，即叠合的诸点是分子呈现生物活性所必须存在的位置，因为受体识别配体(药物)是通过它们在三维空间展现众多性质而实现的，所以要求叠合的分子最大限度地使分子力场具有相似性。分子力场可用多种因素表征，例如静电场、立体场、氢键和疏水场。这种叠合方法存在的问题是所计算的分子力场包括了整体分子，但药物与受体接触的只是部分表面。

6.7.1.3　三维结构特征的计算

3D-QSAR 有多种计算三维性质的方法，最早使用的是拓扑最小差异法(minimal topological difference，MTD)和分子形状分析法(molecular shape analysis，MSA)。这两种方法计算的是整体分子的形状。在应用时将 MTD 或 MSA 与经典的 QSAR 参数如电性参数(如 Hammett σ常数)和基团疏水常数(π)相组合，进行 3D-QSAR 分析[58]。

另一类描述分子形状的方法是网格法，这种方法是在空间确定包含了所有化合物的网格位置，然后放置一种探针原子或基团在网格点上依次位移，用势能方法计算探针与各个分子中原子的相互作用能。该方法也用来优化蛋白-配体复合物的三维结构。这种相互作用能是向量，表征的是每个分子的形状匹配和静电作用在空间的分布。

6.7.1.4　定量模型的建立

3D-QSAR 的计算方法有三种：统计学方法，神经网络法和遗传算法，这些可用迭代方法对分子的叠合、描述符的权重和探针的最佳组合做到精确的计算。

1. 统计学方法

多元线性回归分析用于经典的 QSAR 分析，经最小二乘法将分子的物理化学性质与生物活性相拟合，通常所研究的性质(自变量)未必全部包括在 QSAR 方程之中。但多元回归分析不适合于 3D-QSAR，因为三维描述符(自变量)的数量比化合物数(作为因变量的活性数据)大得多，而且这些自变量之间具有相关性，所以需要另外的方法。

为解决这个矛盾，3D-QSAR 使用偏最小二乘法(partial least-squares regression，PLS)，该方法求出一组变量，变量之间不仅相关，而且与活性值相关。该算法首先提取相关性质的线性组合，作为解释生物活性最大变差的第一个变量。通常有 10 个以下的潜在变量可解释上百个化合物的数千个三维性质的数据。

PLS 与线性回归一样，模型中的潜在变量越多，对观测的生物活性拟合得越好。然而对某些点的预测会不可靠，因为这时的拟合效果可能来自数据的噪声。为了解决这个问题采用交叉验证方法(cross-validation)，有助于确定适宜的潜在变量数[59]。在进行交叉验证时，首先从样本中抽出一个化合物，用剩余的化合物计算 PLS 模型，并对抽出的化合物的生物活性进行预测。然后将第一个化合物放回到样本中，抽出第二个化合物，用剩余的化合物作 PLS 计算并加以修订，预测被抽出的化合物活性。逐个地重复上述抽一操作(leave–one-out)，直到所有的化合物均被排除一次，而且全过程都对每个潜在变量进行重复。这样由交叉验证结果可得出统计学参数 PRESS(n)，$S_{cv}(n)$和 $R_{cv}{}^2(n)$，以保障统计分析的显著性。它们的关系如下：

$$\text{PRESS}(n) = \sum_{i=1}^{N}(Y_{\text{obs}.i} - Y_{\text{pred}.i})^2 \tag{6-138}$$

$$R_{\text{cv}}^2(n) = \frac{\text{PRESS}(n=0) - \text{PRESS}(n)}{\text{PRESS}(n=0)} \tag{6-139}$$

$$S_{\text{cv}}(n) = \frac{\text{PRESS}(n)}{N-1-n} \tag{6-140}$$

式(6-138)~(6-140)中，n 为潜在变量数，$Y_{\text{obs},i}$ 是化合物 i 观测的活性值，$Y_{\text{pred},i}$ 是化合物 i 的活性预测值，N 是化合物样本数，开始时 $R_{cv}{}^2(n)$值随着潜在变量数增加而增加，以后再增加变量数时，变成平台甚至剧烈下降。正确选择的潜在变量数通常会使 $R_{cv}{}^2(n)$增加，$S_{cv}(n)$ 降低。然而，即使通过交叉验证，偏最小二乘法仍然对变量的噪声很敏感。在预测化合物活性时，交叉验证会对模型的作用估计偏高；但当各个化合物都有独特的性质时，交叉验证会对模型的质量估计偏低。

2. 进化和遗传算法

进化和遗传算法(evolutionary and genetic algorithms)是通过模拟自然进化的策略迅速找出与生物活性相关的分子结构特征。遗传算法得到的 QSAR 基因序列，提示在模型中是否存在某特定性质。模型的优劣表示了对实验数据拟合的好坏与预测的能力，通常是用回归分析或偏最小二乘法进行拟合。在遗传算法中，第一个模型的基因组是随机产生的，以后生成的模型是由前面的模型经过变异和重组而得来的。变异操作是将一个或多个基因组并联随机地增加、删除或交换；重组则是对原基因组(有或无某特定变量)的部分序列加以交换，产生出由不同组合的变量所构成的模型。

进化算法是将单一的模型进行连续的变异，原代与子代之间保持最大的适配。

遗传算法所处理的群体模型，是通过重组和变异产生新一代模型。遗传函数算法考虑的不只是某种性质的有无，也考虑性质与生物活性关系的形式，可用线性函数、高斯函数、多项式函数以及偏最小二乘法等表征。

3. 人工神经网络

QSAR 人工神经网络方法是模拟生物神经网络原理，将大量的信息处理单元连接形成一种动力学系统，具有非线性、并行性、容错性和自学习性等特点。这种方法是将输入的信息处理成模型，模型隐含着所输入的性质和分子变量之间的关系。输入的性质是分子结构的变量，输出的性质是生物活性强度。计算方法是用反传播网络法和偏最小二乘法。

神经网络常为多层网络，如误差逆向学习法网络和反向传播神经网络都是由三层或三种元件组成：输入元件，神经元层和输出元件，如图 6-15 所示。

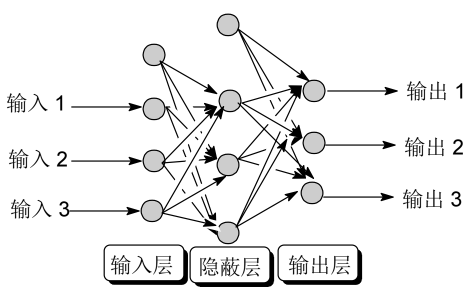


图 6-15　三层神经网络示意图

神经网络输入的是化合物的各种性质。在第一层中每个神经元代表一种性质，但若分子的性质呈相关时，网络中设置较少的神经元，例如具有显著性主因子数。每个神经元在其输入点进行计算，产生输出信号，该输出信号表示了所有的输入信号与该神经元表示的性质之间的关系。为了改善观测值与拟合值之间的相关性，网络调节各个输入值对不同神经元的权重，直至拟合度不再改变。不同的神经网络对神经元、相互的连接和调节输入值的权重等有不同的算法。由于单层神经元只能再生出线性回归模型，因而常常建立多层模型，以解释更复杂的关系。

神经网络法还没有简单的方法来估价数据过分拟合所带来的危险，所得到的模型在预测新化合物活性方面，常常比回归分析的结果差，因此，应当用交叉验证加以弥补。

6.7.1.5　QSAR 模型的验证

大多数三维定量构效关系方法所分析的自变量非常多，所以为防止 3D-QSAR 模型呈偶然相关，需要进行检验。主要有两个步骤：交叉验证和检验最终模型的真实性。如果化合物样本较多，可分出少量样本不作为训练集，不参与模型的建

立，而是作为预测集化合物考察模型的真实性。或者将生物活性数据打乱后再进行 3D-QSAR，如果得到的模型与数据未打乱的模型相近，则表明原来的模型为偶然相关，证明是不真实的[60]。

应当指出，QSAR 模型的可靠性取决于数据的质量，换言之，化合物和活性数据的来源非常重要。如果化合物是多样的化学结构，则得到的 QSAR 会更有普遍意义。QSAR 方法所分析的化合物往往并非统计学方法指导下设计的，实验设计获得的化合物和活性会提高 3D-QSAR 预测能力。在用 QSAR 预测未知物的活性时，预测的生物活性值的精确度不会比实验方法的精度更高。

6.7.2 三维定量构效关系方法

6.7.2.1 拓扑最小差异法

拓扑最小差异法(minimal topological difference，MTD)是将药物分子与受体结合部位之间立体的差异程度定量地描述，MTD 参数可用于经典的 QSAR 分析，例如与 Hansch-藤田分析法的电性和疏水参数结合使用[62]。

分子的 MTD 参数是由该分子的原子位置与参比的超分子的原子相比较得到的。所谓超分子包含了 QSAR 训练集中所有分子所占据的位置。超分子的产生方法是，首先将分子逐个叠合，使对应的原子数有最大程度的重叠，而不只限于药效团的原子和基团。这样，超分子是各个化合物含有的非氢原子的融合体，它的每一个顶点相当于训练集的化合物中一个或多个原子所占据的三维空间。通常两个原子之间的距离小于 0.5 Å 时，定为一个顶点。

在用户定义的受体映射图中，超分子的每一个顶点所占据的位置对活性的影响有三种情况：有利、中间和不利的影响。化合物的 MTD 值的算法是将处于不利位置的顶点数减去有利的顶点数，然后通过每次改变一个顶点的性质来反复精修受体图，以改善活性与结构的适配性，整个过程也常常使用交叉验证方法。进一步改进的方法是要求模型具有自洽性。在设计新化合物时，受体内部腔穴壁上不得有接触顶点。如果化合物的拓扑结构与训练集的化合物不同，则需要逐个对原子进行叠合，因而预测的精确度受到限制。

6.7.2.2 分子形状分析法

分子形状分析法(molecular shape analysis，MSA)是将两个分子的形状压缩成一个数值，通过对这些形状指数的比较，可得出受体腔穴的信息[61]。形状指数可作为独立变量参与经典 QSAR 的构效关系分析。

MSA 方法首先是计算所有化合物的最低能量构象并进行叠合，从而得到一个

矩阵，矩阵的每一行是一个化合物的不同的构象，每一列是不同分子构象的形状指数。MSA 的参数有重叠的立体体积、重叠的表面积、重叠的长度和非重叠的体积等。药效构象与分子最低能量构象之间的差异也可作为分子的参数[62]。

用多元回归分析或偏最小二乘法确定哪个(些)MSA 参数与生物活性有相关性[63]，回归方程中 MSA 参数可为一次项或平方项，重叠体积参数的系数为正值时，表明该分子与参比分子的相似性越大，预期的活性越高；非叠合体积的系数为负值时，表示分子与参比分子形状越不相似，活性越弱。

当活性与 MSA 呈线性相关时，表示化合物活性不会超过参比分子，如果生物活性与重叠体积呈抛物线关系，而且一次项系数为正值、平方项系数为负值时，则表明参比分子形状太大，不能与受体腔穴适配。最佳分子大小应在母体分子与参比分子之间。如果这样的化合物尚未合成，则可通过外推的方法，预报该化合物的活性。

6.7.2.3 距离几何法

距离几何法(distance geometry methods，DGM)是一种数学方法，它所产生的三维结构是将分子中原子间距离定义在最高和最低限内，分子中原子在三维空间的位置不是用笛卡儿坐标 *XYZ* 表示[64]。由于在叠合过程中分子的转动和移动不会改变原子间距离，对于距离矩阵的分析可以解释两个或多个分子中一些原子是否能够重叠和怎样重叠，而无须作实际的叠合操作。距离几何法中最简单的程序是 REMOTEDISC (receptor modelling from three dimensional structure and physico-chemical properties of the ligand molecules)，它是根据配体分子二维结构和物化性质推演出的受体分子模拟。

REMOTEDISC 程序用疏水性、立体性和静电性表征每一个原子，其目的是确定受体腔穴中最低数目的亚结构，以便使所有适配于特定亚结构的全部原子处于相似的环境之中。通过系统地检验全部化合物与强效分子的最低能量构象的相似性，来选择药效构象和叠合的原则[65]。首先是考察活性最强的最低能量构象，然后依次考察活性较差的较高能量构象，直至求出统计学上具有显著性的模型。

为了找到结合部位的腔穴，要构建一个初始的如同前述 MTD 法的超分子的模型，超分子的每一个顶点对生物活性的贡献用式(6-141)拟合[66]。

$$\lg 1/c = -wE_{\mathrm{c}} + \sum_{i=1}^{n_{\mathrm{s}}} \sum_{j=1}^{n_{\mathrm{p}}} (c_{jk} \sum^{n_{\mathrm{o}}} P_{jk}) \tag{6-141}$$

式中，E_{c} 是药效构象与最低能量构象的能量差值；n_{s} 是受体结合腔穴的个数；n_{p} 是相互作用类型的数目；n_{o} 是在受体某一腔穴中配体的原子个数；P_{jk} 是在第 i 个

腔穴中配体的第 k 个原子的第 j 种性质；c_{jk} 和 w 是经最小二乘法拟合的系数。受体的主要腔穴是经过逐步剔除后仍然保留的结合腔，与其相邻的次级腔穴与主要腔穴融合在一起。如果自变量数超过观测值数，则不能使用多元回归方法，需要对结合腔穴作初始选择，最终的模型是通过多元回归分析确定上式的系数 c_{jk} 和 w。图 6-16 是用 REMOTEDISC 方法研究一系列核苷类抗病毒化合物的结合腔穴的实例。

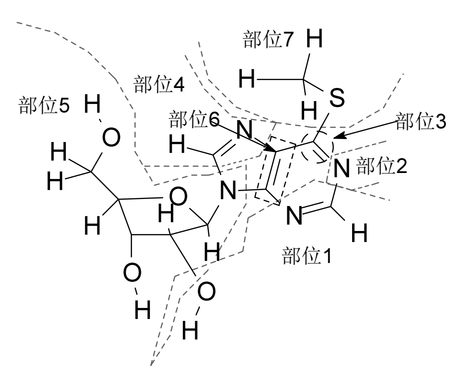


图 6-16　核苷类抗病毒化合物的结合腔穴

6.7.2.4　比较分子场分析法

比较分子场分析法(comparative molecular field analysis，CoMFA)是另一种 3D-QSAR 方法[67]，这种方法的理论依据与前述的两种方法相似，认为药物分子与受体的相互作用是靠可逆的、非共价结合的弱作用力，如静电引力、氢键、疏水作用和范德华引力等。系列化合物在与同一受体结合时，是通过这些弱相互作用而实现的。在不了解受体三维结构的情况下，若能将诸化合物的力场分布与对应的活性定量地关联起来，即可建立起 CoMFA 模型，用来预测新化合物的活性，同时也勾勒出未知受体的拓扑形状和与药物结合的理化要求。由于该法产生的模型对预测新化合物的活性比较准确，因而得到广泛的应用[68]。CoMFA 的特点是将分子特征的表述、统计学方法和图形显示结合在一起，具有直观和实用性，已经开发成商业软件。下面简要叙述比较分子力场分析法的操作过程。

(1) 用分子力学方法计算并确定每一个化合物的最低能量构象；

(2) 根据对药效团或药效图形(pharmacophoric mapping)的推测与判断，确定叠合位点规则，并将训练集(training set)的化合物按照规则加以叠合；

(3) 建立三维空间网格，使这些被叠合的化合物都包容在这一网格之中；

(4) 应用场契合(field fit)技术，按照化合物的组成、结构特征和拟考察的作用力场的性质，选择适当的探针原子或基团，在上述空间网格的格点上移动。移动

的步长可根据需要而定，通常为 0.4～2.0 Å。使用的探针取决于被考察的力场的性质，例如计算静电力场可用 H^+探针；疏水作用力场和氢键用水分子作探针，与水分子探针作用强的区域为分子亲水部分，作用弱的区域为疏水部分；范德华作用力用 CH_3 作探针；同时考察静电场和空间力场(即范德华力场)可用 sp^3 杂化的 C^+作探针等。探针在网格上每移行一个步长，计算它与各个化合物原子的相互作用能量。这样，得出上千个能量值，连同生物活性值，建成数据表(表 6-16)。

表 6-16　CoMFA 生成的数据表

	生物活性	力场能量值 S_{001}	力场能量值 S_{002}	力场能量值 S_{998}	力场能量值 E_{001}	力场能量值 E_{002}	力场能量值 E_{998}
化合物 1	5.1	−2.34	−1.41	0.23	−0.46	0.02	1.83
化合物 2	6.8	−1.47	−0.29	0.97	−0.03	−0.46	0.14
化合物 3	7.9	0.14	0.48	1.84	−1.47	−2.78	0.49
……	……	……	……	……	……	……	……

(5) 应用偏最小二乘法确定 QSAR 方程式。由于格点的数目很大，往往采集到 2000 个以上的力场值，远远超过了化合物样本数，因而不能用线性回归分析处理。为了准确地反映化合物周围力场的分布与活性变化的关系，采用偏最小二乘法，以克服自变量数目超过因变量(样本)数目所带来的问题。通过抽一法的交叉验证(cross validation)和因子分析(factor analysis)，建立起如式(6-142)的 3D-QSAR 方程：

$$\text{生物活性}=Y+a\times S_{001}+b\times S_{002}+\cdots+m\times S_{998}+n\times E_{001}+\cdots+z\times E_{998} \quad (6\text{-}142)$$

(6) 产生系数等势图(contour map)。上述 CoMFA 产生的构效方程中自变量很多，难以由各自变量的系数看出与生物活性间的关系，因而常常用直观性强的系数图表征该方程。系数图是由颜色不同的曲面构成，标示出为了增加生物活性，哪些部位的正性或负性静电场有利于活性，哪些部位允许有较大基团的存在，哪些部位不允许有较大基团。CoMFA 等势图中，绿色区域表示大体积基团或片段有利于提高活性，黄色区域表示大基团不利于提高活性；红色区域表示正电性有利于活性，蓝色区域表示负电性有利于活性。这样的系数等势图勾画出未知的受体作用部位力场的空间分布，是设计和预测新化合物活性的模型。上述的操作过程可用图 6-17 说明。

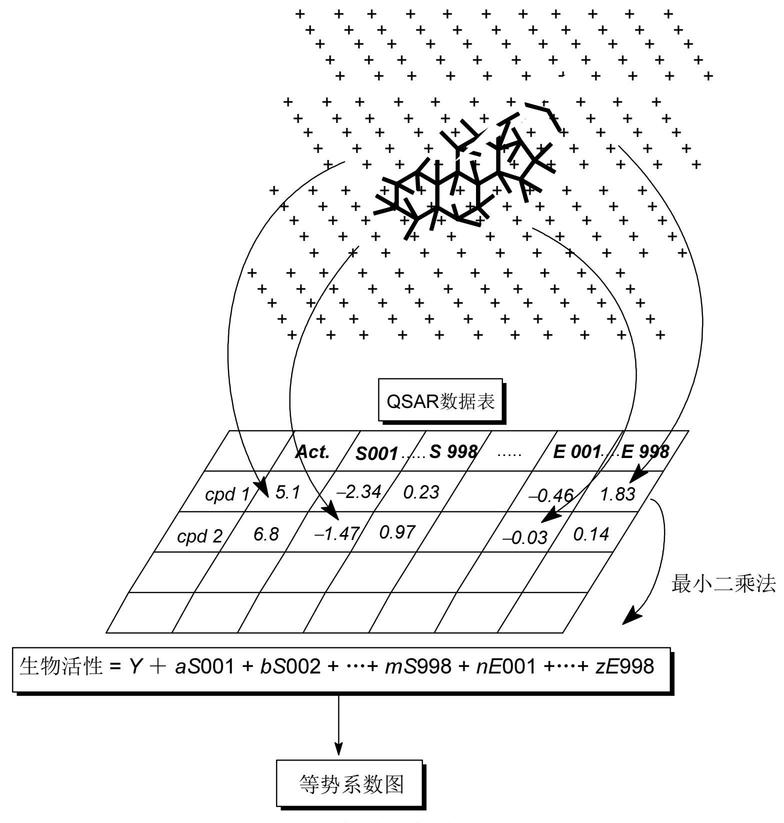


图 6-17　比较分子场分析法流程图

应当指出，化合物的初始最低能量构象和叠合规则的确定是 CoMFA 操作的重要步骤，而在调整分子的构象以使交叉验证获得良好的拟合过程，是将低能构象变换成药效构象的过程。这个步骤有许多人为因素会影响 3D-QSAR 的质量。为了证明这一点，笔者用已知维甲 RXR 与 9-顺式维甲酸复合物晶体结构为模板，将 9-顺式维甲酸剥离后，得到的 RXR 结合腔，用 AUTODOCK 将一系列 RXR 激动剂作对接研究，得到的结合能与实验得到的结合常数有良好的相关性。而且，用于对接过程中，受体对配体的诱导契合得到的配体构象，不加改动，也无固定的叠合位点，直接进行 CoMFA 分析，获得的 3D-QSAR 模型与常规方法的 3D-QSAR 模型比较，显著性明显提高[69]。

CoMFA 研究的对象是系列活性化合物与受体结合时周围各种力场的分布，对于化合物的结构没有严格的要求，不同的结构骨架和结构类型只要与受体的结合位点相同，就可以参与分析。Hansch-藤田分析的对象是活性化合物的物理化学参数，对化合物的结构类型有比较严格的要求。CoMFA 操作的关键是确定正确的叠

合规则和选定适宜的探针，以获得与活性有相关性的力场，Hansch-藤田分析是用计算机“筛选”统计学上有显著意义的物理化学参数，两者之间的出发点不同，方法各异，维数亦不同，但获得的信息却有相同或相似之处，例如，均以作用能为基础，CoMFA 是用探针揭示其在空间格点上与药物分子各种作用的能量大小和分布，Hansch-藤田分析则是基于热力学和线性自由能相关分析，所以，2D-和 3D-QSAR 在能量这一层面上统一起来了。笔者对维甲类化合物进行 Hansch-藤田分析和 CoMFA 分析，证明二者有关联性，Hansch-藤田分析中的指示变量在 CoMFA 分析中得到了清晰的解释[70]。Hansch-藤田分析既可以研究药物-受体的相互作用(体外试验数据)，也可分析包含药代动力学和药效学在内的整体动物的实验数据，CoMFA 则从三维空间上解释药物与受体在原子和基团水平上的作用，两者相辅相成，互相补充，可以深化认识药物作用的本质。

参 考 文 献

[1] Crum-Brown A, Frazer T. Trans Roy Soc Edinburgh, 1868-1869, 25: 1-53

[2] Ferguson J. The use of chemical potentials as indices of toxicity. Proc Roy Soc B, 1939, 127: 387-404

[3] Hansch C, Fujita T. *p-σ-π* Analysis: A method for the correlation of biological activity and chemical structure. J Am Chem Soc, 1964, 86: 1616-1626

[4] Free Jr S M, Wilson W M. A mathematical contribution to structure-activity studies. J Med Chem, 1964, 7: 395-399

[5] Kier L B, Hall L H, Murray W J, et al. Molecular connectivity I: Relationship to nonspecific local anesthesia. J Pharm Sci, 1975, 64:1971-1974

[6] Kirschner G L, Kowalski B R// Ariens E J. Drug Design. Vol VIII. New York: Academic Press, 1979, 73

[7] Dun III W J, Wold S, Edlund U, et al. Multivariate structure-activity relationships between data from a battery of biological tests and an ensemble of structure descriptors: The PLS method. Quant Struct-Act Relat, 1984, 3: 131-137

[8] Fukunaga J Y, Hansch C, Steller E E. Inhibition of dihydrofolate reductase: Structure-activity correlations of quinazolines. J Med Chem, 1976, 19: 605-611

[9] Hoeltje H D and Tintelnot M. Theoretical investigations on interactions between pharmacon molecules and receptor models V: Construction of a model for the ribosomal binding site of chloramphenicol. Quant Struct-Act Relat, 1984, 3: 6-9

[10] Ghose A K, Crippen G M. Quantitative structure-activity relationship by distance geometry: quinazolines as dihydrofolate reductase inhibitors. J Med Chem, 1982, 25:892-899

[11] Cramer III R D, Patterson D E, Bunce J D. Comparative molecular field analysis (CoMFA) 1: Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. J Am Chem Soc, 1988, 110: 5959-5967

[12] Craig N P. Interdependence between physical parameters and selection of substituent groups for

correlation studies. J Med Chem, 1971, 14: 680-684
[13] Hansch C, Leo A// Corwin H, Albert J Leo. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. New York: John Wiley & Sons Inc, 1979, 48-63
[14] Hammett L P// Louis P H. Physical organic chemistry, reaction rates, equilibria and mechanism. 2nd ed. New York: McGraw Hill, 1970
[15] Hansch C, Leo A// Corwin H, Albert J Leo. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. New York: John Wiley & Sons Inc, 1979, 2-4
[16] Taft R W// Newman M S. Steric effects in organic chemistry. New York: John Wiley & Sons Inc, 1956, 556
[17] Roberts J D, Moreland W T. Electrical effects of substituent groups in saturated systems. reactivities of 4-substituted bicyclo [2.2.2]octane-1-carboxylic acids. J Am Chem Soc, 1953, 75: 2167-2173
[18] Taft R W. Sigma values from reactivities. J Phys Chem, 1960, 64: 1805-1815
[19] Swain C G, Lupton Jr E C. Field and resonance components of substituent effects. J Am Chem Soc, 1968, 90: 4328-4337
[20] Lien E J, Guo Z R, Li R L, et al. Use of dipole moment as a parameter in drug-receptor interaction and quantitative structure-activity relationship studies. J Pharm Sci, 1982, 71: 641-655
[21] Li W, Guo Z R, Lien E J. Examination of the interrelationship between aliphatic group dipole moment and polar substituent constants. J Pharm Sci, 1984, 73: 553-558
[22] 何艺兵, 安凤春. 有机化合物正辛醇/水分配系数的测定. 环境化学, 1994, 13 : 195-197
[23] Gulyaeva N, Zaslavsky A, Lachner P, et al. Relative hydrophbicity and lipophilicity of drugs measured by aqueous two-phase partitioning, octanol buffer partitioning and HPLC. Asimple model for predicting blood-brain distribution. Europ J Med Chem, 2003, 38:391-396
[24] Detroyer A, Schoonjans V, Quester F, et al. Exploratory chemometric analysis of the classification of pharmaceutical substances based on chromatographic data. J Chromatog, A, 2000, 897: 23-36
[25] Poole S K, Durham D, Kibbey C. Rapin methof for estimating the octanol-water partition coefficient (log P_{ow}) by microemulsion electrokinetic chromatography. J Chromatog, B: Biomedical Sciences and applications, 2000, 745:117-126
[26] Fujita T, Iwasa J, Hansch C. A new substituent constant, π, derived from partition coefficients. J Am Chem Soc, 1964, 86: 5175-5180
[27] Nys G C, Rekker R F. Statistical analysis of a series of partition coefficients with special reference to the predictability of folding of drug molecules. Chim Therap, 1973, 8: 521-535
[28] Rekker R F. The hydrophobic fragmental constant. Its derivation and application// Nauta W T, Rekker R F. The hydrophobic fragmental constant. Amsterdam: Elsevier, 1977, **1**:1-24.
[29] Hansch C, Leo A // Corwin H, Albert J Leo. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. New York: John Wiley & Sons Inc, 1979, 5, 37
[30] Dross K P, Mannhold R, Rekker R F. Drug lipophilicity in QSAR practice II: Aspects of RM-determinations; critics of RM-corrections; Interrelations with partition coefficients. Quant

Struct-Act Rela., 1992, 11: 36-44

[31] Unger S H, Cook J R, Hollenberg J S. Simple procedure for determining octanol-aqueous partition, distribution, and ionization coefficients by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. J Pharm. Sci, 1978, 67: 1364-1367

[32] Kubinyi H. Quantitative structure-activity relations. 7. The bilinear model, a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character. J Med Chem, 1977, 20: 625-629

[33] Taft R W. Polar and steric substituent constants for aliphatic and o-benzoate groups from rates of esterification and hydrolysis of esters. J Am Chem Soc, 1952, 74: 3120-3128

[34] Idoux J P, Hwang P T R, Hancock C K. Alkaline hydrolysis and nuclear magnetic resonance spectra of some thiol esters. J Org Chem, 1973, 38: 4239-4243

[35] Bauer N, Fajans K, Lewin S Z// Weissberger A.Technique of Organic Chemistry. Vol I. Part II. 3rd ed. New York: Interscience, 1996, 1139

[36] Bondi　A. Van der Waals volumes and radii. J Phys Chem, 1964, 68: 441-451

[37] Moriguchi I, Kanada Y, Komatsu K. Van der Waals volume and the related　parameters for hydrophobicity in structure-activity studies. Chem Pharm Bull, 1976, 24: 1799-1806

[38] Verloop A, Hoogenstraaten W, Tipker J// Ariens EJ. Drug Design. Vol. VII. New York: Academic Press, 1976, 165

[39] Verloop A. The STERIMOL Approach to Drug Design. New York: Maecell Dekker, 1987

[40] Radic M. Characterization of molecular branching. J Am Chem Soc, 1975, 97: 6609-6615

[41] Daniel C, Wood F S. Fitting Equations to data: Computer analysis of multifactor data, 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1980, 20-22

[42] Norden B, Edlund U, Johnels D, et al. Simplified C-13 NMR parameters related to the carcinogenic potency of polycyclic aromatic hydrocarbons. Quant Struct-Act Relat, 1983, 2: 73-76

[43] Wold S. Validation of QSAR's. Quant Struct-Act Relat, 1991, 10: 191-193

[44] Seydel J. Mode of action and quantitative structure-activity relationship of sulfonamides in biological systems of different complexity (enzymes, bacteria, rat, and human). International J Quantum Chem,1981, 20: 131-150

[45] Hansch C, Leo A, Schmidt C, et al. Antitumor structure-activity relationships. Nitrosoureas vs. L-1210 leukemia. J Med Chem, 1980, 23:1095-1101

[46] Hatheway G J, Hansch C, Kim K H, et al. Antitumor 1-(X-aryl)-3,3-dialkyltriazenes. 1. Quantitative structure-activity relationships vs L1210 leukemia in mice. J Med Chem, 1978, 21:563-574

[47] Hansch C, Hatheway G J, Quinn F R, et al. Antitumor 1-(X-aryl)-3,3-dialkyltriazenes. 2. On the role of correlation analysis in decision making in drug modification. Toxicity quantitative structure- activity relationships of 1-(X-phenyl)-3,3-dialkyltriazenes in mice. J Med Chem, 1978, 21:574-577

[48] Hansch C// Ariens E J. Drug Design. Vol.I. New York: Academic Press, 1971, 271

[49] Hansch C, Bjoerkroth J P, Leo A. Hydrophobicity and central nervous system agents: On the

principle of minimal hydrophobicity in drug design. J Pharm Sci, 1987, 76: 663-687
[50] Lien E J// Ariens E J. Drug Design. Vol.V. New York: Academic Press, 1975, 81
[51] Guo Z R// Fujita T. QSAR and drug design: New developmens and applications. Amsterdam: Elsevier, 1995, 299
[52] Koga H, Itoh A, Murayama S, et al. Structure-activity relationships of antibacterial 6,7- and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. J Med Chem, 1980, 23: 1358–1363
[53] Cramer R D, Snader K M, Willis C, et al. Application of quantitative structure-activity relationships in the development of the antiallergic pyranenamines. J Med Chem, 1979, 22: 714-725
[54] Hansch C, Hathaway B, Guo Z R, et al. Crystallography, quantitative structure-activity relationships (QSAR) and molecular graphics in a comparative analysis of the inhibition of dihydrofolate reductase from chicken liver and Lactobacillus casei by 4,6-diamino-1,2-dihydro-2,2-dimethyl- 1-(substituted-phenyl)-s-triazines. J Med Chem, 1984, 27:129-143
[55] 郭宗儒. 三嗪类化合物对 *L.casei* 离体二氢叶酸还原酶活性和 *L.casei* 细胞生长抑制作用的定量相关关系. 药学学报, 1983, 18: 33-38
[56] Fujita T, Ban T. Structure-activity relation. 3. Structure-activity study of phenethylamines as substrates of biosynthetic enzymes of sympathetic transmitters. J Med Chem, 1971, 14: 148-152
[57] Nicklaus M C, Wang S, Driscoll J S, et al. Conformational changes of small molecules binding to proteins. Bioorg Med Chem, 1995, 3: 411-428
[58] Hansch C, Leo A. Exploring QSAR: Fundamentals ans applications in chemistry and biology. Washington, DC: ACS, 1995
[59] Cramer III R D, Bunce J D, Patterson D E, et al. Crossvalidation, bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional QSAR studies. Quan Struct-Act Relat, 1988, 7: 18-25
[60] Kubinyi H. Variable selection in QSAR studies. I. An evolutionary algorithm. Quan Struct-Act Relat, 1994, 13: 285-294
[61] Oprea T, Ciubotario D, Sulea T, et al. Comparison of the minimal steric difference (MTD) and comparative molecular field analysis (CoMFA) methods for analysis of binding of steroids to carrier proteins. Quan Struct-Act Relat, 1993, 12:21-26
[62] Hopfinger A J. A QSAR investigation of dihydrofolate reductase inhibition by baker triazines based upon molecular shape analysis. J Am Chem Soc, 1980, 102: 7196-7206
[63] Hopfinger A J, Burke B J, Dunn III W J. A generalized formalism of three-dimensional quantitative structure-property relationship analysis for flexible molecules using tensor representation. J Med Chem, 1994, 37: 3768-3774
[64] Crippen G M. A novel approach to calculation of conformation: distance geometry. J Comput Phys, 1977, 24: 96-107
[65] Ghose A, Cripper G, Revanker G, et al. Analysis of the in vitro antiviral activity of certain ribonucleosides against parainfluenza virus using a novel computer aided receptor modeling procedure. J Med Chem, 1989, 32: 746-756

[66] Ghose A, Cripper G. Use of physicochemical parameters in distance geometry and related three-dimensional quantitative structure-activity relationships: a demonstration using escherichia coli dihydrofolate reductase inhibitors. J Med Chem, 1985, 28: 333-346
[67] Cramer RD III, Patterson D E, Bunce J D, et al. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. J Am Chem Soc, 1988, 110: 5959-5967
[68] Martin Y C, Kim K W, Lin C T// Charton M. Advances in quantitative structure property relationships. Greenwich, CJ: JAI Press, 1996, Vol I: 1-52
[69] 王敏敏，黄牛，郭宗儒等. 维 A 类化合物的构效关系研究.I.维 A 类与受体结合作用的三维构效关系.药学学报, 1997, 32: 43-48
[70] 黄牛，褚凤鸣，郭宗儒. 维甲类化合物构效关系研究：维甲 X 受体特异性配体的二维和三维定量构效关系研究.药学学报, 1998, 33:442-448

第 7 章　酶 抑 制 剂

酶是药物作用的重要靶标。临床应用的药物除少数是酶的激活剂外，绝大多数是通过特异性地抑制酶活性起作用的，根据统计，大约有三分之一的临床用药是酶抑制剂，这些靶酶可以是人体内固有的，也可以是侵入到体内病原体的酶系。无论是什么来源的酶抑制剂，其产生药效的基础是抑制酶的活性，以维持或提高底物量或浓度，或者降低酶的代谢产物量或浓度，产生临床上有益的效果。

7.1　基 本 知 识

7.1.1　酶反应的特点

酶的化学本质是蛋白质，作为生物催化剂，其结构与功能比无机催化剂复杂得多。酶促反应有两个重要特征：加速反应速率和催化的特异性。

7.1.1.1　提高反应速率

酶与普通催化剂一样，其作用原理是在底物向产物转变的过程中，使过渡态稳定化，降低活化能$\Delta G^{\neq}$，导致加快了反应速率，酶催化的化学反应一般可提高速率10^{10}~10^{14}倍。酶的催化作用可在多环节上实现，例如，使酶-底物复合物去稳定化(destabilization)、过渡态的稳定化、中间体的非稳定化以及促进产物的释放等。这些步骤都有比较低的活化自由能，由于降低了能垒，提高了反应速率，如图 7-1 所示。

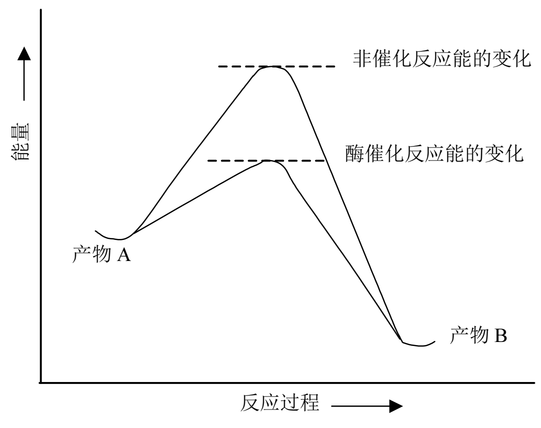


图 7-1　酶催化反应与能量的关系

酶催化反应只改变反应速率，但不改变反应的平衡点。也就是说，酶加速了正反应速率，也加速逆反应进行，酶的作用只是加速了平衡点到达，不改变呈平衡状态时底物与产物浓度的比例。酶的活性用转化数(turnover number)表征，即单位时间内每个酶的活性中心将底物转化变为产物的分子数。酶分子与底物的结合和对产物的释放，是酶催化反应的两个重要环节，高转化数的酶对这两个环节是非常迅速的。

7.1.1.2　催化具有特异性

酶催化反应的特异性包括两个方面：与底物结合的特异性和反应的特异性。酶反应过程可用下式表示：

$$\mathrm{E+S} \underset{}{\overset{K_\mathrm{s}}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \overset{k_\mathrm{cat}}{\rightleftharpoons} \mathrm{EP} \rightleftharpoons \mathrm{E+P} \tag{7-1}$$

首先，酶 E 与底物 S 结合，形成复合物 ES，或称米氏复合物，该过程中酶的活性中心参与了这种特异性的结合，相互作用力包括静电引力、氢键、疏水作用、电荷转移和范德华力等。只有形成了复合物 ES，才有可能转化成酶与产物结合的复合物 EP，然后酶和产物分开。

在由 ES 转变成 EP 的过渡态时，底物与酶的活性部位发生最大的相互作用，酶不会过分地与中间体结合，否则会增加中间体与过渡态之间自由能的差异。

酶的结合特异性系指酶分子只与一种底物形成复合物 ES，底物结构的微小变化虽保持了结合的特异性，但形成的复合物不是 ES，不能转变成 EP。例如酶只与一个对映异构体底物结合而不与另一对映体结合，反映了结合的特异性。酶的活性中心往往有多个手性中心，在与消旋的底物结合时，可能会形成两种或多种非对映异构体复合物，由于构成两个底物的原子和基团在空间的排布方式不同，其中一个对映体形成复合物的结合能会比另一个能量高，若两个复合物的结合能差异大，则只会形成一种复合物；若差别不大，可生成两种复合物，但一般只有一种能够转变成产物。

酶的反应特异性产生于酶活性部位的另一区域，即构成酶蛋白的氨基酸的特定酸性、碱性和亲核性，以及辅酶的参与等，这体现在式(7-1)的 k_cat 阶段中。反应的特异性还表现在化学上两个相同的氢原子在被酶分子脱一个氢时，由于酶的手性作用，只立体选择性地作用于其中一种质子，而普通的催化剂没有这种选择性。

7.1.2　酶抑制剂的作用环节

前已提及，酶抑制剂的作用靶酶可以是人体固有的酶，也可以是侵入体内病

原体的酶，这两类酶的抑制剂有不同的特点和不同的设计策略，但作为治疗基础的共同点，是阻止酶的催化反应，使底物聚集，浓度提高，或使产物减少，浓度降低。根据抑制剂干预酶反应的不同环节，可分为如下数类。

7.1.2.1　抑制单一酶

酶 E 催化底物 A 生成产物 M，这类抑制剂的特点是通过抑制酶的活性，使底物 A 在体内累积或降低 M 的生成，从而增强底物或减少产物的生理效应，达到治疗目的。

$$A \xrightarrow{E} M$$

抑制剂

由于底物 A 的缺乏或不足而呈现病理状态，抑制剂的作用是提高底物浓度。例如胆碱酯酶抑制剂溴吡斯的明(pyridostigmine bromide,1)使乙酰胆碱水平增高，用于治疗重症肌无力和青光眼。若产物 M 过多引起不良后果或不希望的作用，酶抑制剂的作用是降低 M 的浓度，以消除或减轻病理状态。例如别嘌呤醇(allopurinol，2)抑制黄嘌呤氧化酶，阻止了引起痛风的代谢产物尿酸的生成。

HBr

1　　　　2

7.1.2.2　抑制级联酶反应中的一个酶

产物 M 是由 A 经过一系列酶反应过程或称作级联(cascade)反应产生的。如果过量的 M 可引起机体的有害效应，或者 M 是病原体(如微生物或癌细胞)生长所必需的物质，可抑制其中的某步催化反应，以降低其浓度。抑制作用宜选择适当的环节，例如抑制级联反应的决速步骤 E_2，以高效率地阻止 M 的生成。

$$A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \xrightarrow{E_3} D \xrightarrow{E_4} M$$

抑制剂

体内过高水平的胆固醇会在血管中沉积引起动脉粥样硬化。人体内的胆固醇三分之二是由本身生物合成的，由乙酰辅酶 A 经 20 步酶反应生成。为了降低体内胆固醇水平，宜选择级联反应的决速步骤，例如羟基甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMG-CoA 还原酶)可作为抑制靶标。阿托伐他汀(atorvastatin，3)是降低胆固醇生

理水平的有效药物。

3

7.1.2.3 抑制级联反应的两个酶

产物 M 是由 A 经酶级联反应生成的。为了抑制 M 的生成，可以用两种或两种以上的抑制剂分别抑制两种酶系。

$$A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \xrightarrow{E_3} D \xrightarrow{E_4} M$$

（抑制剂1 作用于 E_1，抑制剂2 作用于 E_4）

这两种抑制剂产生的是协同作用，比单独使用一种酶抑制剂所用的浓度或剂量低，得到较好的治疗效果。这种策略是肿瘤联合化疗和艾滋病鸡尾酒疗法的生化基础，例如联合使用人免疫缺陷病毒 I(HIV-1)逆转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂，以抑制病毒的复制，可获得更好的治疗效果。

7.1.2.4 抑制辅因子的功能和再生

这是减少生物合成链中有害代谢物质 M 的另一途径。由中间体 B 生成 C 的反应，需要辅因子 X 的参与，在反应中 X 转变成 Y，后者在另一酶 E 的催化下再生成 X。如果对 E 的抑制作用使辅因子 X 不得再生，则可阻断代谢物 M 的生物合成链。

$$A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \xrightarrow{E_3} D \xrightarrow{E_4} M$$

（B→C 时 X 转变为 Y，Y 经 E 再生为 X；抑制剂→E）

辅因子Z 或 + 抑制剂 → 辅因子Z-抑制剂

如果酶反应的辅因子 Z 与抑制剂结合，生成不可利用的物质，也可以达到降低 M 的目的。例如氟尿嘧啶(5FU)抑制胸苷酸合成酶可通过与酶(Enz)、辅酶四氢叶酸 Z 形成稳定的三元复合物 Enz-Z-5FU，使酶失活，导致癌细胞死亡。

7.1.2.5　抑制偶联反应酶

为了抑制有害产物 M—CH_3 的生成，可不必直接抑制催化该反应的酶 E，而是抑制与该反应相偶联的反应，达到治疗目的。

A —E→ M−CH_3
SAM　SAH —SAH 水解酶→ 产物
抑制作用　抑制剂

底物 A(例如含有邻苯二酚的药物)被儿茶酚 *O*-甲基转移酶(COMT)催化发生甲基化，生成代谢产物 M—CH_3，与此反应相偶联的反应是 *S*-腺苷甲硫氨酸(SAM)转变成 *S*-腺苷高半胱氨酸(SAH)，SAH 水解酶可使 SAH 水解成产物，使底物 A 转变成 M—CH_3 浓度增加，导致产生病理状态。随着产物 SAH 的聚集，可抑制 A 转变成 M—CH_3(邻二酚的甲基化)的酶催化活性。为了提高 SAH 对酶 E 的抑制作用，可使用 SAH 水解酶抑制剂，使 SAH 不能被水解而累积，从而抑制了产物 M—CH_3 的生成。

7.1.2.6　抑制药物的代谢酶

药物代谢酶是一组代谢转化作为外源性物质(xenobiotics)药物的酶系，大多属于细胞色素 P450 氧化酶，这类酶的作用是促进药物化学转化而易于排泄。为了保持药物的作用，延长药物的半衰期，防止药物的代谢失活，可使用药物代谢酶的抑制剂作为辅助药物，以保护药物免遭代谢失活，减少给药次数，提高用药效率。

A(药物) —E(药物代谢酶)→ B(失活物质)
抑制剂(辅助药物)

例如利阿唑(liarozole,4)是细胞色素 CYP17 (17-α-羟化酶/C17-20 裂解酶)抑制剂，后者在肝脏迅速氧化代谢维 A 酸而降低治疗白血病的效果。在用维 A 酸治疗同时给以利阿唑可提高治疗效果[1]。*β*-内酰胺酶是水解青霉素或头孢菌素的代谢酶, 克拉维酸（clavulanic acid，5）可抑制*β*-内酰胺酶，与青霉素合用可提高后者的抗菌作用。

N　N　N　H　Cl　O　OH　N　O　COOH

4　　5

7.1.3　酶催化作用的机理

底物与酶经分子识别和结合后，可通过不同的机制催化生成反应产物，常用于解释酶的催化机制的学说有以下几种：靠近和定向作用，广义酸-碱催化作用，共价催化，静电催化和张力或变形作用等。

7.1.3.1　靠近和定向作用

底物与酶的靠近，酶成为底物的结合模板，底物结合于酶分子上，降低了转动和平动的自由度。由于催化基团与底物已构成一个整体，此时的反应为一级反应而不是二级反应。而且，酶将底物保持在反应中心，相当于增加了反应基团的浓度。例如底物在溶液中的浓度为 10^{-3}mol/L，而在活性中心区域的浓度可达到 10^{2} mol/L，浓度提高了 10000 倍，这意味着酶活性中心的反应速率是非常高的,靠近作用提高了反应速率。表 7-1 用普通的有机化合物二元酸单酯的相对水解速率的差异，说明分子或基团的靠近对反应速率的影响[2]。

表 7-1　不同结构的二元酸单酯水解作用的相对速率

化合物				
相对反应速率	1	20	230	5300

7.1.3.2　广义酸-碱催化作用

酶催化反应若发生质子转移，可用广义酸-碱催化机理加以解释。乙酸乙酯在中性介质中水解速率很慢，是因为在这种条件下，亲核试剂水分子和亲电试剂羰基都处于反应活性状态。如果提高亲核试剂或亲电试剂的性能，就可以增加反应速率。例如提高反应介质的 pH，可使氢氧根离子的浓度增大，氢氧根离子的亲核性强于水分子，因而加速了反应；或者降低介质的 pH，增加了氢离子浓度，使羰基质子化，提高了羰基的亲电性，同样也增加反应速率。

机体内的反应不可能在偏离 pH 7.4 的环境中进行，酶催化水解过程是利用了活性中心的氨基酸残基上的酸性和碱性基团的催化作用，图 7-2 中 B 和 B^{+}-H 分别代表酶蛋白的碱性氨基酸残基和酸性氨基酸残基，它们的协同作用促进了酯的水解。

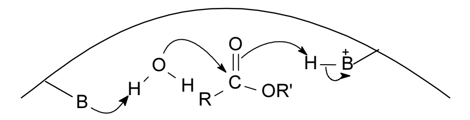


图 7-2　酶的广义酸-碱催化示意图

表 7-2 列出了酶分子中广义酸和广义碱官能团。

表 7-2　蛋白质中的广义酸和广义碱官能团

广义酸基团(质子给予体)	广义碱基团(质子接受体)
—COOH	$—COO^-$
$—\overset{+}{N}H_3$	$—NH_2$
—SH	$—S^-$
—(苯环)—OH	—(苯环)—O^-
(咪唑环) N-H，$^+$N-H	(咪唑环) NH，N:

例如α-胰凝乳蛋白酶 (α-chymotrypsin)作为丝氨酸蛋白水解酶，活性部位的丝氨酸残基用来催化肽键的水解。在有机化学上丝氨酸残基的羟基应是反应性能较低的亲核基团，但在它附近有天冬氨酸和组氨酸残基的参与时，通过电荷转换系统将羟基变成了氧负离子。图 7-3 表示在这催化三组合体系中，是如何活化丝氨酸羟基的：天冬氨酸的羧基(在溶液中 pK_a 3.9)夺去组氨酸的咪唑基的质子(溶液中的 pK_a 6.1)，后者又夺去了丝氨酸的羟基氢(溶液中 pK_a 14)。显然，只根据溶液中的 pK_a 值是很难理解这个历程的，因为这是个高能量过程。但是，在酶的活性部位的 pK_a 值一般与溶液中是不同的[3]。

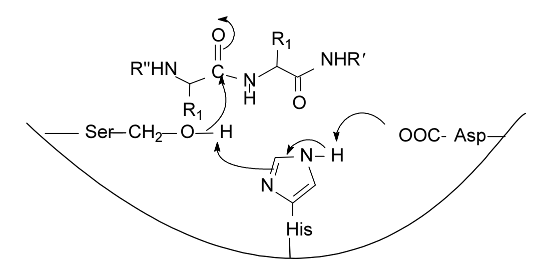


图 7-3　α-胰凝乳蛋白酶催化水解的三组合体系

7.1.3.3　静电催化和去溶剂化作用

某些酶的催化中心是非极性的，因而催化基团被低介电环境所包围。酶在催化过程中，基态去稳定化和过渡态稳定化是两个重要因素，基态去稳定化是在酶

与底物结合时，酶的催化部位的带电荷基团发生去溶剂化(即失去水分子)，因而底物处在低介电常数(即疏水性)的环境中，该环境使底物上的带电荷基团去稳定化。去溶剂化也可暴露出带电荷基团，从而使过渡态的电荷稳定化。由于在低介电常数环境中这些静电相互作用比在水中更强，导致带电荷基团更能将反应中过渡态产生的电荷稳定化。在过渡态碳四面体的中间体情况下，能产生这种稳定化的部位称作氧负离子穴(oxyanion hole)[4]。然而酶的活性部位未必带完全的正电荷，而可能因局部偶极作用产生的部分正电荷与过渡态的负电荷相互作用，或与质子化的基态形成氢键。枯草杆菌酶属于丝氨酸蛋白水解酶，其催化作用主要是氧负离子与蛋白酶残基形成氢键。若将活性部位的丝氨酸残基经位点突变改换成亮氨酸，因失去了氢键给体，酶的 k_{cat} 大幅度下降，而 K_m 值不变，说明氢键的存在对催化作用很重要，而较小影响结合作用[5]。进而用位点突变技术将枯草杆菌酶的催化三元体 Ser121，His64，Asp32 全部被丙氨酸置换，虽然比未突变的野生型酶的催化速率慢 2×10^6 倍，但仍可催化酰胺键的水解，仍比没有该酶催化的速率快 14 倍[6]。这说明除了亲核作用外，广义碱的催化作用也很重要。

7.1.3.4　共价键催化作用

有些酶可以利用活性部位氨基酸残基的亲核性与底物形成共价键，然后第二个底物与该酶-底物中间体反应，生成产物，这个过程又称作亲核催化作用。该过程可用图 7-4 表示，图中，Y 是氨基酸或多肽，基团 X^-向肽键作亲核进攻，生成的过渡态为共价结合的四面体，由于 Y^-作为离去基团比 X^-更容易，得到的中间体被氢氧根离子 OH^-进攻，将肽键水解，氨基酸残基 X^-恢复到初始状态。

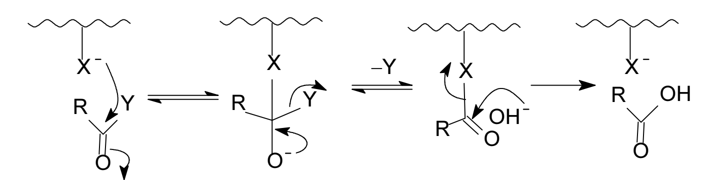


图 7-4　亲核催化作用的过程

酶活性部位重要的亲核基团有半胱氨酸的巯基、丝氨酸的羟基、组氨酸的咪唑基、赖氨酸的末端氨基、天冬氨酸和谷氨酸的末端羧基等，这些基团的活化是邻近的咪唑基或水分子经广义碱作用，使这些亲核基团失去质子，因而在肽水解过程中(图 7-4 中 $R=NH_2CHR'$，Y=氨基酸或肽)，可将反应性能相对低的酰胺键转变成反应性能较高的共价中间体，例如用丝氨酸残基作亲核基团时，生成活泼的酯键；半胱氨酸残基生成硫酯键，它们都可被迅速水解。

活性部位亲核基团的催化作用强于水分子的水解反应，是因为前者为酶与底

物的键合，丝氨酸或半胱氨酸残基的进攻，相当于分子内反应，即单分子反应，对于熵效应是有利的，而水分子的反应为双分子反应。此外，丝氨酸的氧负离子或半胱氨酸硫负离子的亲核性也强于水分子。

7.1.3.5　张力或变形作用

在催化反应中，分子的张力或变形对反应性能影响很大，例如环状磷酸酯分子具有一定的张力，碱性水解后会解除环的张力，这表现为环磷酸酯的水解速率比非环状的磷酸酯的快百倍[7]。

酶反应过程若能够降低底物的张力或使其变形，反应速率就会增高。这种作用发生在酶活性部位处，使活性部位变成高反应活性状态，或发生在底物分子上，提高了基态的能量，反应性能更加活泼。

环状磷酸酯张力大　　　　开链磷酸酯张力小

底物与酶结合后发生形变或张力变化，对催化机制所以起重要作用，是因为底物的基态稳定化与过渡态稳定化同时发生，即ΔG与非催化反应没有区别，只是向下移动了。为了在催化反应中降低ΔG，复合物 ES 会因状态变化、去溶剂化或熵丢失等原因提高了 ES 和 EP 之间的ΔG。随着反应的进行，由于张力能的释放，或经过其他机制，使ΔG 降低[8]。

7.1.4　抑制剂活性的表示方法

为了评价化合物对酶的抑制活性，常常用半数有效浓度 IC_{50} 表示。测定 IC_{50} 的方法是将底物与酶的浓度保持恒定，改变抑制剂的浓度，求出使酶的活性降低(失活)50%所需的抑制剂浓度。

竞争性抑制剂 IC_{50} 值取决于实验所用的底物浓度，抑制剂的离解常数 K_i、底物的米氏常数 K_m 和底物浓度[S]呈如下关系：

$$IC_{50} = K_i [1 + ([S]/K_m)]$$

上式的底物的浓度大于 K_m 值时，导致 IC_{50} 值高于 K_i，尤其当底物浓度较高时，K_i 值偏低更加显著。

非竞争性抑制剂的 IC_{50} 值与底物浓度的关系如下：

$$IC_{50} = K_i [1 + (K_m/[S])]$$

根据上式，底物高浓度时，IC_{50} 接近于 K_i 值，当底物浓度较低时，IC_{50} 明显低于 K_i 值。

因此，当不知道抑制剂的作用类型时，测定的底物浓度以接近于 K_m 值为宜，这样会降低 IC_{50} 与 K_i 的偏差。由于初始反应速率与竞争性和非竞争性抑制作用呈线性相关，用 Dixon 作图法可估计 K_i 值，并推断出抑制剂的作用类型。

不可逆抑制剂和混合型抑制剂的反应速率与抑制剂浓度呈非线性关系，此时只有测定大量的数据才能求出 IC_{50} 值。

7.2　酶 抑 制 剂

根据酶抑制剂的反应的特点，可分成可逆性抑制剂和不可逆抑制剂。可逆性抑制剂是在抑制剂与酶分子之间发生可逆性结合，一般是通过非共价键或弱键合作用。这种结合可用稀释法或凝胶过滤法将抑制剂除去，解除对酶的抑制。可逆性抑制剂与酶的反应可迅速达到平衡状态，抑制作用的强弱取决于抑制剂的浓度。不可逆抑制剂一般是通过共价键与酶的活性中心结合的，由于牢固的键合不能用稀释或凝胶过滤法除去。不可逆抑制剂的作用强度与时间相关。这两类抑制剂的界限并非很严格，有些强效可逆性抑制剂虽然与酶非共价结合，但因非常牢固，离解速率很慢，难以确定是可逆或不可逆性结合，例如甲氨蝶呤与二氢叶酸还原酶的结合虽然是非共价键，但因 K_i 值非常低，类似于不可逆抑制。

7.2.1　可逆性抑制剂

按照可逆性抑制剂与酶结合部位的不同，可分为竞争性可逆抑制剂和非竞争性抑制剂。竞争性可逆抑制剂是与底物竞争酶的结合部位，此时抑制剂和底物与酶的同一位点结合。非竞争性抑制剂与底物的结合位点不同，不与底物竞争酶的结合部位。严格的非竞争性抑制剂比较少见，常常是抑制剂和底物都可与酶结合，但一种结合后会影响另一种的结合。

7.2.1.1　酶动力学

研究酶的抑制作用可以用酶动力学方法，揭示并确定抑制作用的类型。为此，首先考察酶反应的一般规律。假定某底物 S 与酶 E 发生如下的反应：

$$E + S \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} ES \overset{k_{cat}}{\rightleftharpoons} EP \rightleftharpoons E + P$$

式中 K_s 表征底物与酶生成复合物 ES 的平衡常数，k_{cat} 表征将复合物 ES 转变成 EP 的一级反应速率常数。若酶浓度与底物浓度相比小到可忽略不计，实验表明在大

多数情况下产物的生成或底物的减少的初始速率 V 与酶的浓度$[E_0]$成正比。若底物浓度[S]足够低，则速率随着[S]的增加而呈比例地增高，但[S]再增大时，速率的变化逐渐减小，直到极限值 V_{max}。这个过程可用米氏方程表示：

$$V = \frac{[E_0][S]k_{cat}}{K_m + [S]}$$

式中 K_m 是米氏常数，是速率 V 为最大速率 V_{max} 一半时的底物浓度。图 7-5 是底物浓度与反应速率的反应动力学。当[S]处于低浓度时，反应速率取决于底物的浓度，速率对底物呈一级反应。当[S]为高浓度时，此由于全部酶分子被底物饱和，反应达到最大速率 V_{max}，此时对底物呈零级反应。

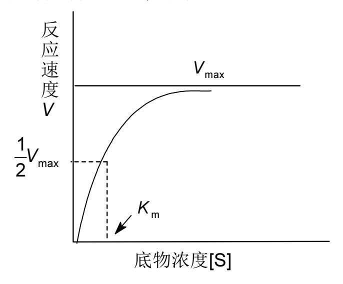


图 7-5　反应速率随底物浓度[S]的递变图

用上述的米氏方程不能计算出 V_{max} 和 K_m，为此取其倒数，转变成线性方程：

$$1/V = 1/V_{max} + (K_m/V_{max}[S])$$

将 $1/V$ 与 1/[S]作图(即 Lineweaver-Burk 图)，得到的直线与 y 轴(速率的倒数)的截距为 $1/V_{max}$，与 x 轴(底物浓度的倒数)的交点距离为米氏常数的负倒数$-1/K_m$。该直线的斜率为 K_m/V_{max}。图 7-6 表示了它们之间的关系。

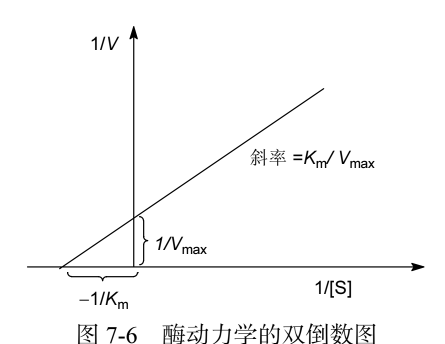


图 7-6　酶动力学的双倒数图

7.2.1.2　竞争性可逆抑制剂

如果抑制剂 I 与酶的活性中心结合，阻止了底物 S 与酶的结合，或者底物与酶活性中心的结合阻止了抑制剂的结合，表明 I 与 S 竞争同一个结合位点，则 I 称作竞争性抑制剂。

在这种情况下酶动力学方程需考虑如下的平衡:

$$\begin{array}{ccccccc} E+S & \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} & ES & \overset{k_3}{\rightleftharpoons} & EP & \rightleftharpoons & E+P \\ + & & & & & & \\ I & & & & & & \\ k_{1,2}\updownarrow k_{2,1} & & & & & & \\ EI & & & & & & \end{array}$$

由于酶不能同时与底物和抑制剂结合，即

$$ES + I \not\longrightarrow ESI$$

$$EI + S \not\longrightarrow ESI$$

所以，在反应液中有游离酶 E_f, ES，EI，而没有 ESI，故总酶浓度[E] ＝ $[E_f]$ + [ES] + [EI]，$[E_f]$、[ES]和[EI]分别代表游离酶、酶-底物和酶-抑制剂复合物的浓度。

由于 $V_{max} = k_3[E]$，$v = k_3[ES]$，

故 $V_{max}/V = [E]/[ES]$，或 $V_{max}/V = ([E_f] + [ES] + [EI])/[ES]$。

为了消除[ES]项，需要利用米氏方程求$[E_f]$ 和 [EI]:

由于 $K_m = [E_f][S]/[ES]$，故$[E_f] = K_m[ES]/[S]$;

由于 $K_i = [E_f][I]/[EI]$，故$[E_f] = K_i[EI]/[I]$;

则$[EI] = K_m[ES][I]/[S]K_i$，将$[E_f]$和[EI]代入 V_{max}/V 式中，得

$$V_{max}/V = \frac{\dfrac{K_m}{[S]}[ES] + [ES] + \dfrac{K_m}{K_i}\dfrac{[I]}{[S]}[ES]}{[ES]}$$

所以 $1/V = 1/V_{max}\{(K_m/[S]) + 1 + K_m[I]/K_i(1/[S])\}$，即：

$$1/V = K_m/V_{max}(1 + [I]/K_i)1/[S] + (1/V_{max})$$

以 $1/V$ 和 $1/[S]$ 作图，加入抑制剂后的直线斜率为 $K_m/V_{max}(1+[I]/K_i)$，与横轴的截距为 $1/K_m(1 + [I]/K_i)$, 或 $(-1/K_m)/(1 + [I]/K_i)$，显然，加入抑制剂后 V_{max} 不变，而 K_m 变大。在竞争性抑制剂存在下，底物浓度与速率作 Lineweaver-Burk 图，如图 7-7 所示，竞争性抑制曲线与 y 轴的截距未变，与无抑

制剂的截距相同，这是因为足够大的底物浓度可克服该可逆性抑制作用，可以达到最大反应速率；但在 x 轴上交点距离向右移动，表明竞争性抑制使 K_m 增大。

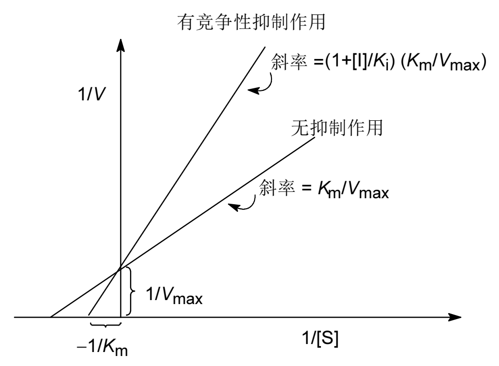


图 7-7　在有和无竞争性抑制作用下酶动力学的双倒数图

因此，竞争性抑制剂为达到抑酶效果，要有适当的浓度，使 E+I 生成 EI 的反应向右进行。药物在体内由于被代谢清除，其浓度降低，失去抑制作用，所以为维持对酶的抑制作用，需要多次给药。

以下列举实例说明竞争性抑制剂的作用。

1. 磺胺类抗菌药物

磺胺类抗菌药是二氢蝶酸合成酶(dihydropteroate synthase)的竞争性抑制剂，它与对氨基苯甲酸竞争该酶的结合位点。蝶啶与对氨基苯甲酸(PABA)在二氢蝶酸合成酶和 ATP 参与下，生成二氢蝶酸。二氢蝶酸作为前体，与谷氨酸偶联生成二氢叶酸。二氢叶酸和四氢叶酸是核酸碱基与重要氨基酸生物合成的重要物质(一碳供体)。

磺胺和 PABA 与二氢蝶酸合成酶发生竞争性结合，是由于二者的分子尺寸、原子间距离和电性分布相似所致。磺胺对二氢蝶酸合成酶的抑制作用可通过加入底物 PABA 加以解除。图 7-8 是磺胺与 PABA 竞争性结合二氢蝶酸合成酶和生成产物的过程。

图 7-8　对氨基苯甲酸(A)与磺胺(B)竞争性结合二氢蝶酸合成酶的过程

二氢蝶酸合成酶与磺胺结合后，同样可催化与二磷酸二氢蝶酸的偶联反应，但形成的产物不能履行正常的二氢叶酸的生理功能，以致使酶受到抑制。细菌、酵母和原虫等微生物体内的叶酸只能靠从头合成(*de novo*)得到，不能使用宿主体内现成的叶酸；人体的叶酸是靠膳食中摄取，不能像微生物那样自行合成，这是磺胺类药物抑菌的选择性作用和对人体较低毒副作用的原因。

2. HMG 辅酶 A 还原酶抑制剂

前已述及，人体内半量以上的胆固醇是在体内合成，由乙酰辅酶 A 经 20 步酶催化反应生成胆固醇[9]。在这生物合成的级联反应中，决速步骤是羟基甲基戊二酸辅酶 A 还原酶(HMG-CoA reductase)催化将 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原成 3,5-二羟基-3-甲基戊酸(mevalonic acid)：

2NADPH 2NADP$^+$
HMG CoA 还原酶

Endo 等从 8000 种微生物发酵液中发现霉菌 *Penicillium citrinum* 的代谢产物可抑制该酶，得到了美伐他汀(mevastatin，6)[10]。Merck 公司从 *Aspergillus terreus* 的发酵液中发现洛伐他汀[11] (lovastatin，7)，对 HMG-CoA 还原酶有竞争性抑制作用。美伐他汀和洛伐他汀对酶的抑制作用非常强，亲和力分别大于底物亲和力 7140 倍和 16700 倍。研究证明，活性成分不是内酯，而是开环的羟基酸，该结构被认为是还原的中间体的模拟物。十氢萘环基的存在增强了与活性部位的疏水区域相结合，增强了亲和力，使得 K_i 值大于底物的 K_m 值。其他他汀类药物的作用靶标也是 HMG CoA 还原酶，都含有羟基酸片段和疏水结构。例如阿托伐他汀(atorvastatin，8)和氟伐他汀(fluvastatin，9)。

6 7 8 9

3. 肾素-血管紧张素系统抑制剂

血管紧张素原是肝脏产生的α-球蛋白，它被蛋白水解酶肾素(renin)水解成十肽，即血管紧张素 I，后者没有生理活性。十肽被血管和肺组织中的血管紧张素转

化酶(angiotensin converting enzyme，ACE)催化裂解，从羧基端切掉二肽组氨酰-亮氨酸，生成八肽，即血管紧张素 II，血管紧张素 II 有强效的升高血压作用。图 7-9 是血管紧张素原转变成血管紧张素 II 过程的示意图。

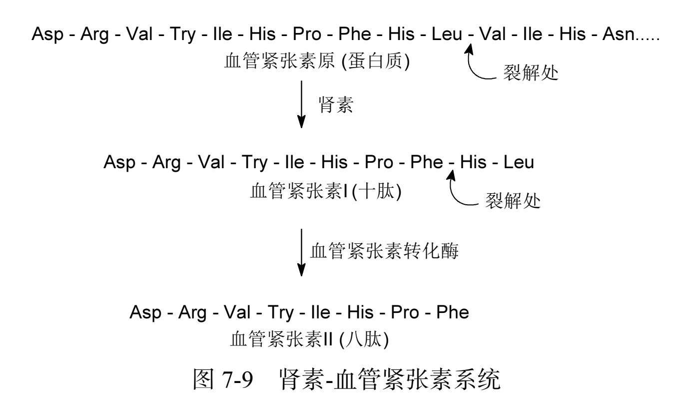


图 7-9　肾素-血管紧张素系统

血管紧张素 II 作为激素，有很强的血管收缩性质，而且可刺激机体产生另一种激素醛固酮(aldosterone)，醛固酮的作用是保留钠和水，排出钾，这些作用也使血压升高。血管紧张素转化酶还可催化缓激肽(bradykinin)C 末端的二肽被切掉，缓激肽是强力血管舒张剂。

从南美蛇毒中得到的肽混合物可抑制缓激肽酶，以致增强了缓激肽活性，后来又发现这些肽也抑制血管紧张素 I 转变成 II 的反应，其中一个九肽抑制两者的活性最强。

另一方面，ACE 含有作为辅酶的锌离子，可被乙二胺四乙酸(EDTA)螯合而抑制。ACE 作为蛋白水解酶，催化底物肽自羧基端一次切掉 2 个氨基酸，这与羧肽酶 A 有相似之处。羧肽酶 A 也是蛋白水解酶，而是自羧基端一次切掉 1 个氨基酸，这两个酶均含有辅因子锌。锌离子与被水解的酰胺的羰基形成配位键，促进水解过程。ACE 的立体结构尚未解析，羧肽酶经 X 射线晶体学已确定了结构[12]，因而在某种程度上可用羧肽酶 A 作为模板设计 ACE 抑制剂。

羧肽酶 A 有三个结合位点：结合羧基的基团、结合 C 末端氨基酸侧链的基团和与倒数第二氨基酸羰基(被水解位点)结合的锌离子。*R*-2-苄基琥珀酸是羧肽酶 A 的强效抑制剂，与酶的这三个位点相结合[13]。*R*-2-苄基琥珀酸作为模板，连接脯氨酸，合成了一系列羧烷酰基脯氨酸衍生物，为了使口服有效，N 端氨基用电子等排体 CH_2 替代，与锌离子配位的羧基与 CH_2 相连[14]。不过，这些化合物对 ACE 的抑制作用很弱，可能与结合锌离子的能力低有关，为此，用巯基代替羧基，成为强效 ACE 抑制剂。

在设计合成的抑制剂中活性较高的是卡托普利(captopril，10)，对 ACE 结合

的 K_i=1.7 × 10^{-7} mol/ L，而对羧肽酶 A 的 K_i = 6.2 × 10^{-4} mol/L，表明有良好的选择性。卡托普利分子中含有巯基、羧基、酰胺基等多种官能团，作为药效团特征，分别履行重要作用：羧基的负电荷与酶分子的正电荷形成静电引力；羰基与酶的氢给体发生氢键结合；巯基与锌离子配位结合；脯氨酸残基与 *S*-甲基发生立体特异的疏水及范德华作用，构成该药物高活性的结构基础。

然而，卡托普利有缺点，分子中的巯基可引起不良反应，并且化学性质不稳定。将巯基变换成类似于二肽的烷氧羰基以模拟产物的结构，用-NH-代替-CH_2-，并为使疏水性与亲水性平衡，引入疏水基团，得到依那普利拉(enalaprilat，11)，对 ACE 抑制作用强于卡托普利 19 倍；羧基酯化为依那普利(enalapril，12)，增加了生物利用度，为口服降血压药物[15]。赖诺普利(lisinopril，13)是默克公司开发的另一个降血压药物，其立体化学为 *S*，*S*，*S*-构型，不需要在体内代谢活化。

10　　11: R = H; 12: R = C_2H_5　　13

4. *芳构酶抑制剂*

芳构酶属于细胞色素 P450 酶系，催化内源性甾族化合物的羟化过程。酶的活性部位含有 Fe^{3+}，还原成 Fe^{2+}后，与氧结合并活化氧分子，将两个羟基插入到底物如雄甾烯二酮或睾酮的 C-19 的甲基上，脱水生成 19-甲酰基后，以甲酸形式脱去，A 环芳构化成雌酮或雌二醇。

芳构酶抑制剂用以阻止雌激素的生物合成，降低体内激素水平，临床用于治疗乳腺癌。为了防止乳腺癌患者手术后复发或转移，在使用化疗药物治疗时需用抗雌激素药物，否则有部分患者的疗效不佳，这是因为在乳腺组织中含有雌激素受体，患者的癌细胞依赖性激素(+ER)，而其他患者不依赖雌激素(-ER)。对于+ER 患者应当使用芳构酶抑制剂，降低血液中雌激素水平，以减少对肿瘤生长的刺激作用，防止复发和转移。

非甾体芳构酶抑制剂氨鲁米特(aminoglutethimide，14)及其吡啶类似物吡格鲁

米特(pyridoglutethimide，15)是芳构酶强效特异的竞争性抑制剂，对碳链裂解酶(desmolase)(催化甾体侧链裂解)的抑制作用弱，因此较少对肾上腺皮质激素的生物合成产生抑制作用，而只对雌激素合成有抑制作用。来曲唑(letrozole，16)和阿那曲唑(anastrozole，17)是另一类芳构酶抑制剂，用作治疗乳腺癌的二线药物。

14　　15　　16　　17

甾类芳构酶抑制剂如普罗美坦(plomestane，18)是抗肿瘤药物，该化合物模拟雄甾烯二酮的结构，与底物竞争性地结合于芳构酶上。它对其他细胞色素 P450 作用较弱，因而选择性较好[16]。普罗美坦是强效的不可逆抑制剂，属于基于机制的(自杀性)抑制剂，关于基于机制的抑制剂的作用过程参见 7.2.2.2 节。

18

5. 黄嘌呤氧化酶抑制剂

嘌呤类化合物代谢紊乱，导致尿酸(uric acid)增加和蓄积，沉积在关节、肾脏和结缔组织中，引起痛风病。一磷酸腺苷(AMP)在体内的一个降解途径是在腺苷酸脱氨酶作用下使 AMP 脱氨，生成一磷酸肌苷(IMP)，后者进而水解成次黄嘌呤(hypoxanthine)，次黄嘌呤被含钼和铁的黄嘌呤氧化酶催化氧化成黄嘌呤(xanthine)，再氧化成尿酸，尿酸是嘌呤类降解的最终产物，正常状态下自尿中排出。下式是 AMP 降解代谢成尿酸的级联反应。

黄嘌呤氧化酶

黄嘌呤　　尿酸(酮式)　　尿酸(烯醇式)

别嘌呤醇(allopurinol，19)和别嘌呤二醇(oxypurinol，20)分别是次黄嘌呤与黄嘌呤的位置异构体，作为黄嘌呤氧化酶的抑制剂，与酶的活性部位发生紧密结合，

使黄嘌呤氧化酶的钼原子停滞在+4 价氧化态，不能像正常催化循环那样回到+6 价氧化态，因而抑制了尿酸的合成。黄嘌呤氧化酶的其他类型抑制剂如烷氧苯基噻唑甲酸类药物 febuxostat[17](21)。

19　　　　20　　　　21

6. 环氧合酶抑制剂非甾体抗炎药和选择性 COX-2 抑制剂

花生四烯酸(arachidonic acid，AA)在体内代谢有两个主要途径：经 5-脂氧合酶代谢成白三烯类(leukotrienes)物质，是过敏性和炎性介质。经环氧合酶代谢成一系列前列腺素(prostaglandins)，具有不同的生理功能。AA 的代谢主要途径如图 7-10 所示。

图 7-10　花生四烯酸经环氧合酶的代谢途径

非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs，NSAIDs)的应用历史较长，是一类具有不同化学结构类型的抗炎化合物，后来发现 NSAIDs 的抗炎活性是由于抑制环氧合酶(cyclooxygenase，COX)，阻止体内前列腺素和类似的自体活

性物质(autocoids)的合成缘故。

环氧合酶迄今已发现有三种亚型，环氧合酶-1，-2 和-3，缩写为 COX-1，COX-2 和 COX-3。COX-1 是组织中固有的结构性酶，代谢 AA 生成前列腺素，维持正常功能，例如在胃中表达，产生前列腺素保护胃肠道黏膜免受胃酸和消化液损伤。COX-2 主要是因细胞因子(cytokines)和炎症介质诱导产生的酶，其代谢 AA 产生的前列腺素引起炎症和疼痛，COX-2 也是正常组织中的结构性酶，如在肾脏、血管内皮细胞和脑中表达，胃中不存在。

传统的非甾体抗炎药 NSAIDs 同时抑制 COX-1 和 COX-2，因此在抗炎的同时引起胃肠道黏膜损伤和胃溃疡，例如吲哚美辛(indomethacin,22)，布洛芬(ibuprofen，23)和氟比洛芬(flubiprofen，24)等药物。

22　　23　　24

选择性 COX-2 抑制剂如塞来昔布(celecoxib，25)和艾托昔布(etoricoxib)等减弱了对 COX-1 的抑制，因而降低了胃肠道刺激的副作用。COX-1 和 COX-2 虽然是同工酶，酶蛋白的同源性较强，但活性中心有数个氨基酸残基不同，导致结合腔的体积不同。COX-2 的有较大的疏水腔，可容纳分子尺寸较大的选择性 COX-2 抑制剂，磺酰基在与 COX-2 结合中起主要作用。传统的 NSAIDs 分子尺寸比较小，容易与 COX-1 结合，是对 COX-1 和 COX-2 选择性不高的原因。

25　　26　　27　　28

然而，体内的 COX-1 和 COX-2 在正常情况下处于平衡状态，长时间大剂量的使用高选择性 COX-2 抑制剂如罗非昔布(rofecoxib，27)和瓦德昔布(valdecoxib，28)可引起血栓与心血管疾病，以致上市后被中止使用。这是因为过强地抑制 COX-2 会降低体内的前列环素(PGI2)水平，失去了 PGI2 的扩张血管和抑制血小板聚集作用。未受抑制的 COX-1 则由生成的前列腺素进而生成血栓烷 A2(TXA2)促

进血管收缩和血小板聚集，引起了心血管事件。笔者认为研制抗炎药物对 COX-2 宜有适度的抑制，以维持体内 COX-1 和 COX-2 功能的平衡[18]，以此理念研制了抗炎药物艾瑞昔布(imrecoxib，29)。

美洛昔康(meloxicam，30)和吡洛昔康(piroxicam，31)也是体外选择性作用于 COX-2 酶的抑制剂，人体实验证明同时作用于 COX-1 和 COX-2，对 COX-2 活性强于 COX-1 大约 10 倍，对胃肠道的刺激作用较小，临床用于治疗风湿性关节炎和骨关节炎。

29　　30　　31

7. 脂氧合酶抑制剂

花生四烯酸(AA)代谢的另一途径是被脂氧合酶(lipoxygenase，LOX)氧化，代谢产物介导过敏症和炎症。在多形核细胞中含有 LOX，将 AA 氧化成 5-羟基过氧四烯酸(5-HPETE)和 5-羟基四烯酸(5-HETE)，5-HPETE 被 LTA_4 合成酶 5-LOX 催化生成 5,6-环氧化物，即白三烯 A_4 (LTA_4)，LTA_4 经水解酶水解开环生成 5,12-二羟基化合物，即白三烯 B_4 (LTB_4)，LTA_4 还可在谷胱甘肽-*S*-转移酶催化下加入谷胱甘肽链，生成 LTC_4，后者在γ-谷氨酸转移酶催化下脱掉谷氨酸生成白三烯 D_4 (LTD_4)，LTD_4 在二肽酶作用下失去甘氨酸，生成白三烯 E_4 (LTE_4)。所以，白三烯是由 LOX 引发的一组内源性化合物，过去称作过敏性慢反应物质(slow-reacting substance of anaphylaxis，SRS-A)。图 7-11 是花生四烯酸经脂氧合酶的代谢途径。

图 7-11　花生四烯酸经 5-脂氧合酶的代谢途径

LTC_4、LTD_4和 LTE_4分子中含有氨基酸或寡肽，又称肽白三烯，可引起平滑肌尤其是支气管平滑肌收缩和痉挛，导致支气管喘息，白三烯收缩支气管作用强于组胺近千倍，是引起许多过敏性疾病的主要介质，包括哮喘、牛皮癣、关节炎和炎性肠道疾患等。

脂氧合酶抑制剂齐留通(zileuton，32)可抑制 5-脂氧合酶(IC_{50}=0.7μmol/L)，分子中含有羟基脲片段，是必需的药效团特征。临床用于治疗结肠炎、哮喘病和慢性阻塞性肺病[19](COPD)。Licofelone(33)是结构不同于齐留通的芳香乙酸化合物，不仅抑制 5-脂氧合酶，而且还抑制 COX-1 和 COX-2，是作用于多靶标的药物，临床上治疗骨关节炎[20]。另一 5-脂氧合酶抑制剂 MK-886(34)是含有疏水性较强的芳香丙酸化合物，治疗抗过敏性疾病[21]。

32　　33　　34

8. 醛糖还原酶抑制剂

醛糖还原酶(aldose reductase)又称糖醇脱氢酶，其功能是催化还原葡萄糖成山梨醇，山梨醇经脱氢酶作用生成果糖。该生化反应需要辅酶 NADPH，将氢负离子由还原型的烟酰胺核苷酸转移到葡萄糖的醛基上，反应具有立体特异性。在异常情况下，葡萄糖被还原成山梨醇，引起的病变是发生糖尿病、眼睛和其他器官的疾患。醛糖还原酶抑制剂用于治疗糖尿病。

醛糖还原酶的活性中心有碱性氨基酸残基，在体内被质子化生成正离子，与辅酶的核苷酸负离子发生静电结合，而且有较大的疏水区域与底物相结合。

依帕司他(epalrestat，35)是含有苯基共轭的 E,Z 双键的罗丹宁乙酸，可治疗 II 型糖尿病引起的神经和视网膜病变。依帕司他为共轭体系，X 射线晶体衍射表明为平面结构，在溶液中也成平面的稳定状态[22]。泊那司他(ponalrestat，36)为酞嗪酮乙酸类化合物，是非竞争性醛糖还原酶抑制剂，WP-921[23] (37)和 NZ-314[24](38)也都是杂环乙酸类化合物。

35　　36　　37　　38

另一类醛糖还原酶抑制剂是螺环乙内酰脲类化合物如非达司他(fidarestat，39)和咪瑞司他(imirestat，40)，以及螺琥珀酰亚胺类化合物如瑞尼司他(ranirestat，41)，米那司他(minalrestat，42)。这类药物的构效关系表明，分子中的疏水性对于穿越细胞膜和与醛糖还原酶的结合均有重要贡献[25]。

39　40　41　42

9. H^+,K^+-ATP 酶抑制剂

H^+,K^+-ATP 酶抑制剂是控制胃壁细胞的分泌小管释放氢离子的重要酶系，由胆碱系统、组胺 H2 受体或其他因素所引起胃壁细胞分泌的胃酸，都是经 H^+,K^+-ATP 酶这一总枢纽开启的，因此有质子泵(proton pump)之称，抑制该质子泵酶是研发抗消化道溃疡病的重要靶标。奥美拉唑(omeprazole，43)是 H^+,K^+-ATP 酶强效抑制剂，具有弱碱性，聚集于胃壁细胞分泌小管的酸性区域。亚砜基是必需基团，在酸的催化下，亚砜基发生 Smiles 转位，生成螺环化合物，开环生成次磺酸，后者是亲巯基试剂，与 H^+,K^+-ATP 酶活性中心的 SH 基结合，如图 7-12 所示。奥美拉唑作用时间较长与此机制相关。奥美拉唑的主要代谢失活产物是氧化成砜。

HCl
Smiles 转位

图 7-12　奥美拉唑抑制作用的过程

如果有过量的巯基存在，酶二硫化物会经碱催化的 Smiles 重排，生成还原型的奥美拉唑，后者在肝脏中被氧化成奥美拉唑，如图 7-13 所示。

图 7-13　奥美拉唑抑制作用的解除过程

H^+,K^+-ATP 酶的其他“拉唑”类抑制剂有兰索拉唑(lasoprazole，43)、泮托拉唑(pantoprazole，44)和雷贝拉唑(rabeprazole，45)等，结构与奥美拉唑相似，是有代表性的模拟创新药物(follow-on drugs)。

43　　44　　45

“拉唑”类 H^+,K^+-ATP 酶的共同化学特征是在酸性介质中不稳定，为避免在胃酸中迅速分解，常制成微型胶囊制剂。苯并咪唑的 N－H 还可转变成碱金属或碱土金属盐，增加稳定性。例如贝雷拉唑为钠盐。奥美拉唑不仅制成了镁盐，而且由于亚砜的硫原子具有手性，拆分后证明 *S* 构型为活性物，称作艾美拉唑镁(esomeprazole magnesium)。奥美拉唑的 *R* 型无活性。

10. 磷酸二酯酶-4 抑制剂

磷酸二酯酶-4(phosphidiesterase-4，PDE-4)是磷酸二酯酶家族中的一个亚型，主要存在与炎症和免疫性细胞中，功能是催化水解环一磷酸腺苷(cAMP)成 AMP。PDE-4 抑制剂特别是选择性 PDE-4B 亚型抑制剂可升高细胞内 cAMP 水平，cAMP 具有抑制炎症细胞的作用，可舒张气管平滑肌，因此对于哮喘和慢性阻塞性肺病(COPD)的炎症有治疗作用。磷酸二酯酶-4 抑制剂有西洛司特[26](cilomilast，46)，罗氟司特[27](roflumilast，47)和泰托司特[28](tetomilast，48)等。

46　　47　　48

从上述列举的 PDE-4 抑制剂可以看出，它们具有共同的结构特征：在苯环上有邻位的烷氧基，一个烷氧基的体积大于另一个，较小体积的烷氧基对位有较大的疏水基团。这些特征反映在抑制剂与酶的活性中心的结合方式。例如图 7-14 是西洛司特与 PDE-4 的结合模式，两个氧原子与酶的 Gln443(Q443)残基形成氢键，甲基进入小疏水腔 Q_1，环戊基进入大疏水腔 Q_2 中，环己基与甲硫氨酸(M)发生疏水-疏水相互作用。

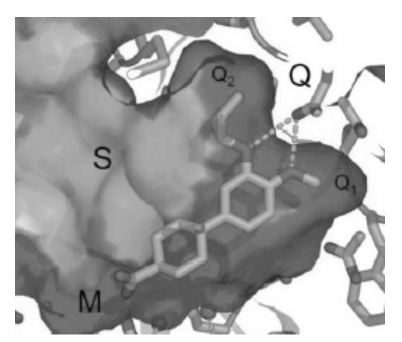


图 7-14　PDE-4 与抑制剂西洛司特的结合模式

11. 血栓烷合成酶抑制剂

花生四烯酸代谢级联反应的一个途径是生成血栓烷(thromboxane，TX)，是由 PGH_2 经血栓烷合成酶催化生成血栓烷 A2(TXA_2)，TXA_2 具有强效血管收缩和血小板聚集作用。图 7-15 是由前列腺素生物合成血栓素的途径。

花生四烯酸(AA) COOH → 环氧合酶 → PGG_2 (COOH, OOH) → 还原酶 → PGH_2 (COOH, OH) → 血栓素合成酶 → TXA_2 (COOH, OH) → 水解酶 → TXB_2 (OH, COOH, HO, O, OH)

图 7-15　前列腺素生物合成血栓素的途径

TXA_2 半衰期仅为 30s，很不稳定，迅速水解成 TXB_2，降低了生理活性。其实，前列腺素对血管和血小板也有调节作用，PGE_2 诱导血小板聚集，PGD_2 和 PGI_2 抑制血小板聚集，特别是 PGI_2 与 TXA_2 对血管和血小板有相反的生理功能，相互制约起调节作用。

7.2.1.3　过渡态类似物

前已述及，酶之所以可提高反应速率，是因为能够稳定过渡态，降低反应的活性自由能。在这个过程中，酶分子在活性部位改变了自身的构象，以便与底物有最强和最适配的相互作用，同时还使底物的分子变形，以有利于过渡态的形成。催化变形学说就是根据酶抑制剂的有效性和抑制剂与变形的底物结构相似而提出的，并且认为与过渡态结构相似的抑制剂同酶的结合作用应比底物更加紧密[29]，在这个意义上，酶的强效抑制剂应是结构稳定的、并类似于过渡态结构的化合物，而不是类似于底物的结构[30]。

过渡态类似物(transition state analog)作为酶的一类抑制剂，是稳定的化合物，它模拟酶反应中过渡态的活化复合物结构。酶分子使过渡态稳定化，往往通过不同的方式，例如降低非极性活化部位的电荷的分散程度，或增加氢键的形成，或发生更多的疏水相互作用等。因此，过渡态类似物可利用这些只在过渡态存在而基态下没有的额外的结合能。而且，在多底物的酶反应中，过渡态类似物可降低摩尔比，这也是有利因素[31]。

过渡态理论认为，酶催化反应的速率与非酶催化反应速率之间的关系，同酶与过渡态的亲和力和酶与底物的亲和力之比相同，如下式中所表示的，酶催化作用(k_E/k_N)和酶提高了同过渡态的结合作用相关联(K_T/K_S)。过渡态类似物在理论上与酶有非常高的亲和力，与底物的结合常数之比可高达 10^8~10^{14}。

$$\begin{array}{ccccc} E + S & \underset{}{\overset{K_N}{\rightleftharpoons}} & E + S' & \overset{k_N}{\longrightarrow} & E + P \\ K_S \updownarrow & & K_T \updownarrow & & \updownarrow \\ ES & \overset{K_E}{\rightleftharpoons} & ES' & \overset{k_E}{\rightleftharpoons} & EP \end{array} \qquad \frac{K_T}{K_S} = \frac{K_E}{K_N} = \frac{k_E}{k_N}$$

设计过渡态类似物，需要了解酶反应的分子机制，也应知晓酶反应的能量状况，以便从理论上提出过渡态类似物的结构。在分子设计中常常遇到的困难是如何模拟亚稳定结构，模拟活化复合物具有的部分价键和部分电荷的结构，使过渡态类似物有完整的价键和电荷，并且是稳定的化合物，并使反应中高能中间体的能量与基态分子之差异，更接近于过渡态能量，因此，大多数过渡态类似物实际模拟的是高能反应中间体。虽然过渡态类似物与高能中间体之间在概念上是不同的，但在理念上是一样的，都是利用了酶反应中活化状态的结合性能。

在设计过渡态类似物时，如果酶反应是广义酸碱催化过程，过渡态类似物的酸基和碱基的 pK_a 值应与酶催化中心的广义酸碱催化基的 pK_a 值相匹配，这时抑制剂会与酶发生很强的结合。该反应还得是反应历程的最后过渡态，以便“貌似”终产物。如果再有额外的氢键，尤其是在两个带部分电荷的杂原子之间形成较短

的强氢键作用时，更为有利。此外，由于溶剂化效应和价键杂化作用也会增强过渡态的亲和力[32]。

一般而言，具有相似功能的酶，其催化的反应有类似的过渡态结构，例如多种蛋白水解酶有这种情况。这样，某一个酶的过渡态类似物的基本结构经改造后可以满足同样机制的另一种酶的结构要求，从而得到另一酶的过渡态类似物。Pauling 曾提出一种学说，认为酶对过渡态的亲和力比对底物或产物的亲和力更强，例如水解酶的底物肽键用非水解性的电子等排代替，得到的过渡态类似物证明是强效的抑制剂，并已用于许多酶抑制剂的设计。下面列举一些实例说明过渡态类似物的结构特征。

1. 肾素抑制剂

前面讨论的肾素-血管紧张素系统主要涉及了血管紧张素转化酶的抑制剂的设计与研究，即干预血管紧张素 II 的形成过程。该系统的另一环节是在其前面的血管紧张素 I 的生成，催化这一反应的酶是肾素(renin)，肾素也是抗高血压药物设计的重要环节。

肾素属于天冬氨酸蛋白水解酶，活性部位呈狭缝状结构，含有两个天冬氨酸残基 Asp32 和 Asp215，催化过程是将水分子加成到拟剪切的肽键上，将酰胺键水解。在水解的过程中，设想的过渡态为四面体的双羟基结构[33]，双羟基在理论上会与酶的活性部位结合得非常牢固。最初设计的过渡态类似物，是含 sp^3 杂化碳原子上带一羟基、相邻的 NH 用电子等排体 CH_2 替代，并配置亮氨酸和缬氨酸残基侧链，以与肾素的疏水部位相结合[34]。

另一个设计途径是利用自然界存在的γ氨基酸 statine(Sta)片段，合成的结构为 *iso*-valeryl-Val-Val-Sta-Ala-Ala，对胃蛋白酶(pepsin)有强效抑制作用，将 statine 片段参入到血管紧张素原的序列中，得到了含 statine 的肾素抑制肽(statine-containing renin-inhibitory peptide，SCRIP):

四面体过渡态

H-261 (羟基亚甲基等排体)

SCRIP

ACHPA

H-261 对肾素有很高的抑制活性，IC_{50}＝0.7 nmol/L，进而变换成 SCRIP，IC_{50}＝16 nmol/L，分子中 3*S*-羟基非常重要，换成 3*R* 构型，使活性下降 500 倍[35]。进

而用环己甲基替代 statine 片段中的异丁基，得到 ACHPA，是作用更强的抑制剂。关于肾素抑制剂的综述文章可参阅文献[36]。常用于设计蛋白水解酶抑制剂的过渡态类似物的拟肽结构类型见图 7-16。

statine型　还原型酰胺　羟基亚甲基　二羟亚甲基

α, α−二氟代酮水合物　二氟代statine类似物　亚膦酸基　羟乙胺基

羟乙酰基　羟乙脲基

图 7-16　蛋白水解酶过渡态类似物的结构类型

另一个思路是为改善药代动力学性质，从 H-261 出发，在 N 端和 C 端减少氨基酸残基，当 N 端只剩 2 个氨基酸 Phe-His 时，仍有良好的肾素抑制作用，此时在 N 端有二肽结构，C 端模拟容易切断的 Leu-Val 的过渡态[37]。图 7-17 是这一过程的演化示意图。

Boc−His−Pro−Phe−His ... Ile−His−OH　H-261

图 7-17　肾素抑制过渡态类似物的简化设计示意图

2. 血管紧张素转化酶抑制剂依那普利拉

依那普利拉(enalaprilat，49)及其前药依那普利(enalapril，50)是血管紧张素转化酶(ACE)的强效可逆性抑制剂，用于治疗高血压症和心力衰竭。它的有效性在

于同 ACE 有多位点的结合，并且模拟了 ACE 与底物/产物相互作用的模式。

49　　　　　　50

依那普利拉的结构与 ACE 将血管紧张素 I 水解成 II 的过程中两个过渡态(或活化中间体)具有相似性。在水解过程中，酶的亲核性基团 B 作用于水分子的质子，增强了水的亲核性，对肽键的羰基碳进攻，从而有利于羰基氧与锌离子的静电结合(过渡态 1)，依那普利拉分子中的基团配置和电荷分布与该过渡态 1 结构相似；同时还模拟了被进攻的羰基碳的四面体结构，其电荷分布也与碳-氮键断裂时过渡态 2 的电荷分布相似。所以，该抑制剂模拟了酶-底物和酶-产物的过渡态结构，是 ACE 与底物反应过渡态的类似物。图 7-18 是形成过渡态的示意图。

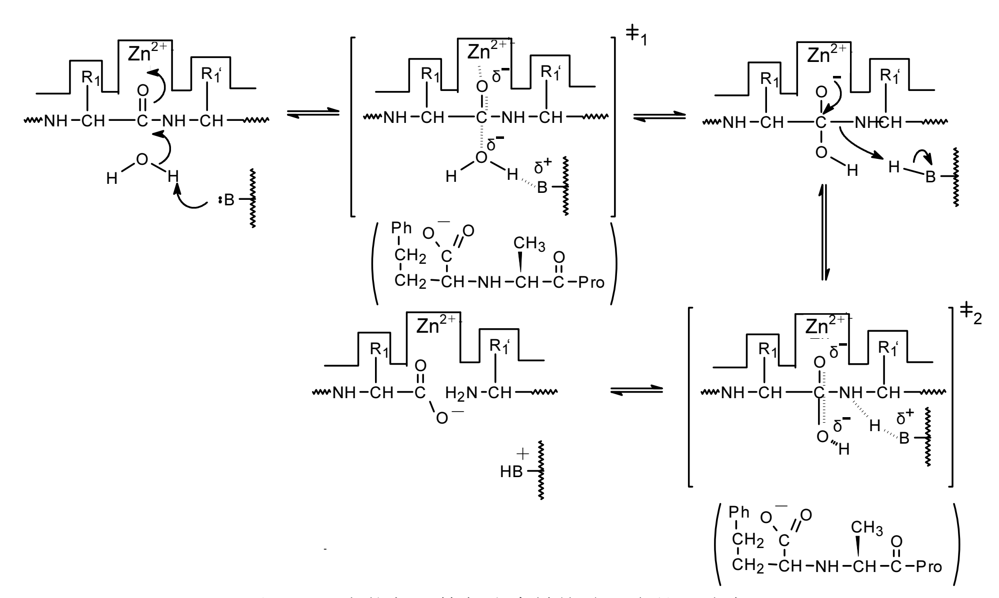


图 7-18　底物与血管紧张素转换酶反应的过渡态

螺普利(spirapril，51)和咪达普利(imidapril，52)是具有与依那普利相似结构的模拟创新药物，也是过渡态类似物。

51　　　　52

3. 喷司他汀

喷司他汀(pentostatin，53)是从霉菌中分离的抗癌抗生素，为腺苷脱氢酶的强效抑制剂，对酶的亲和力 K_i=2.5 ×10^{-12}mol/L，强于底物与酶的结合(K_m=2.5 ×10^{-6}mol/L)10^6倍。喷司他汀是天然核苷 2′-脱氧肌苷(inosine)的类似物，结构特征为 5,7 元并环，分子中含有两个 sp^3 杂化的碳原子，模拟了脱氧腺苷脱氨过程的过渡态，如图 7-19 所示。

53

图 7-19　2′-脱氧腺苷脱氨反应历程

2′-脱氧腺苷的脱氨反应历程是在酶活性中心的亲核基团参与下，水分子向脱氧腺苷的 6 位碳原子作亲核进攻，形成过渡态 1，继之 C—O 和 C—N 键发生电荷转移，形成过渡态 2，后者的 6 位成为 sp^3 杂化碳，喷司他汀是过渡态 1 和 2 的结构类似物，因而它与酶的结合强度强于酶与底物基态的结合[38]。

4. 弹性酶抑制剂

弹性酶(elastase)属于丝氨酸蛋白水解酶，在正常情况下，从肺组织的免疫系统的嗜中性细胞中释放出来，用以分解消化死亡的肺细胞和入侵的细菌。但是，机体也释放弹性酶的抑制剂α_1-抗胰蛋白酶(α_1-antitrypsine)，以避免弹性酶对正常肺组织的结构蛋白、弹性蛋白和结缔组织的破坏。如果弹性酶和α_1-抗胰蛋白酶之间失去了平衡，会引起肺气肿。这种失去平衡的原因可能是先天性的，也可以是后天获得的，例如吸烟使肺组织中白细胞释放氧自由基，引起α_1-抗胰蛋白酶的活性部位 Met358 的氧化，从而失去了抑制弹性酶的作用。

底物与弹性酶反应的过程如图 7-20 所示。

图 7-20　底物与弹性酶的反应历程

弹性酶水解肽键的过渡态，包含两个四面体结构的形成，一是酶的丝氨酸残基与底物发生亲核取代反应过程，另一是丝氨酸残基被酰化的弹性酶与水分子发生的亲核取代形成的过渡态。在活性部位还有 7 或 8 个氨基酸残基(在被水解肽键的两侧)相结合。

Elastatinal(54)是自放线菌分离的抗生素，分子的末端有丙氨醛残基，是弹性酶的强效抑制剂，该醛基与丝氨酸残基形成半缩醛，从而比正常的底物结合得更牢固。然而醛基有很强的化学反应性，缺乏选择性作用。为了模拟弹性酶水解的过渡态，在肽链的末端引入三氟甲基酮，由于三氟甲基的强电负性，也能与弹性酶的丝氨酸残基形成稳定的半缩酮结构，形成可逆的共价键结合，模拟了图 7-20 的过渡态。ZD-8321[39] (55)是含有三氟甲基酮的拟肽，对弹性酶的结合作用 $K_i<10^{-10}$mol/L。ICI-200880(56)是将 N 端的乙酰基变换成芳香酸。这两个药物用于治疗呼吸窘迫综合征(respiratory distress syndrome)。

54

55　　56

5. 人免疫缺陷病毒(HIV)蛋白水解酶抑制剂

人免疫缺陷病毒是引起艾滋病感染的病原体，其蛋白水解酶对于病毒蛋白的组装和成熟，对病毒在体内生长和繁殖有重要作用，HIV 蛋白酶抑制剂可阻止这些过程，阻止病毒的复制和生长而使其不能成熟。HIV 蛋白酶属于天冬氨酸水解酶，为蛋白二聚体，活性部位是 Asp25-Thr26-Gly27 和 Asp25′-Thr26′-Gly27′，两个 Asp 残基构成催化中心[40]，参与广义酸-碱催化的亲核取代反应。该反应中心是水分子进攻易断裂酰胺的羰基。反应的决速步骤是质子的转移和 C—N 键断裂的过渡态[41]。利托那韦(ritonavir，57)、阿他那韦(atazanavir，58) [42]两个药物均在拟肽链中含有羟亚乙基片段，是水解肽键的过渡态类似结构。在羟亚乙基的两侧连接有芳香环，以匹配蛋白酶对疏水作用的要求。

57　　58

7.2.1.4　非竞争性可逆性抑制剂

非竞争性抑制剂(I)的作用特点是与酶-底物复合物(ES)相结合，生成三元复合物 ESI，从而阻断了复合物转化成产物的反应。非竞争性抑制剂同酶的结合位点与底物不同，一般不结合在底物结合的部位，所以能够同时和底物与酶结合。如

果抑制剂或底物在与酶的结合时完全独立进行，则称为典型的非竞争性抑制剂。图 7-21 是典型的非竞争性抑制作用的酶动力学作图，可以看出，非竞争性抑制剂使酶催化反应的最大速率 V_{max} 降低了，即使增加底物的浓度，也不能解除对酶的抑制作用。但由于抑制剂与底物的结合位点不同，所以酶反应的米氏常数 K_m 值未变。

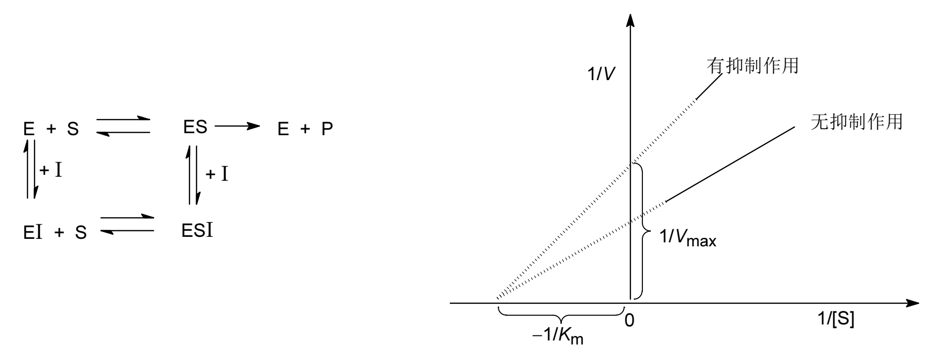


图 7-21　典型的非竞争性抑制作用的酶动力学图

如果非竞争性抑制剂与酶不是完全独立地结合，则为混合型抑制剂。图 7-22 是混合型非竞争性抑制剂的酶动力学作图，提示在抑制剂的存在下，最大反应速率和米氏常数都发生了改变，反映在直线的斜率和截距都发生变化。用 1/V 同 1/[S] 作图，曲线的走向介于竞争性和非竞争性抑制作用的曲线之间。

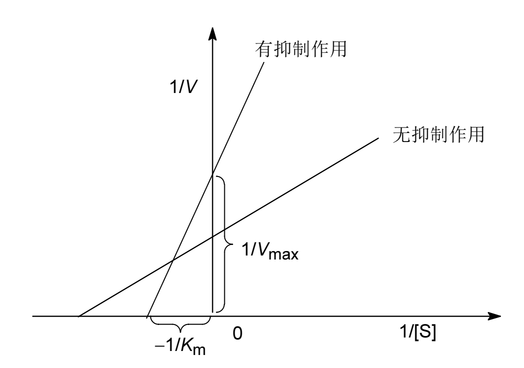


图 7-22　混合型非竞争性抑制作用的酶动力学图

7.2.2　不可逆抑制剂

不可逆抑制剂与酶发生的是不可逆化学结合，所发生的抑制作用不能用稀释、透析或凝胶过滤等方法加以解除，其抑制作用可用下式表示：

$$\begin{array}{c} E + S \underset{}{\overset{k_{cat}}{\rightleftharpoons}} ES \longrightarrow E + P \\ \updownarrow +I \\ EI \end{array}$$

这类抑制剂与酶的不可逆结合，使[E]转变成为[EI]，有效地降低了酶的浓度。如果酶的开始浓度大于抑制剂的浓度，则当抑制反应完结后，剩余的酶可进行正常的动力学过程。不可逆的抑制作用的本质是在酶的活性部位同抑制剂发生共价键结合，使酶失去活性。失活作用是化学计量的，所以无须维持抑制剂的恒定浓度，就可以达到抑制效果。不可逆抑制剂分为两类：指向活性部位抑制剂(active-site-directed inhibitors)或称亲和标记试剂(affinity labelling agents)和基于机制的抑制剂(mechanism-based enzyme inactivators)或称催化常数抑制剂(k_{cat} inhibitors)。

7.2.2.1　指向活性部位抑制剂

这类抑制剂的结构类似于酶的底物，可被酶的活性部位识别，但因含有反应活性的基团，可与酶的活性中心发生共价结合。当抑制剂 I 与酶 E 形成复合物 EI 后，抑制剂中固有的亲电中心与活性部位的亲核中心反应，通常是烷化或酰化反应，生成持久的共价结合。

$$E + I \overset{k_i}{\rightleftharpoons} E \xrightarrow{k_{inact}} E-I$$

亲和标记试剂含有活泼的反应基团，不仅可以同靶酶的活性部位反应，而且也可同其他酶或蛋白质的亲核基团作用，所以尽管抑制剂与底物的结构相似，但特异性作用仍然不强，以致产生毒副作用。在实际应用方面，许多抗癌药物属于这类。这类化合物之所以不失作为药物的价值，系因仍有较好的选择性。当与酶分子形成复合物 EI 后，下一步发生单分子反应，速率很高，比非特异的双分子反应快得多；另外，由于抑制剂与其他酶系的结构互补性较差，在酶的结合部位缺乏必要的亲核基团，难以或较少发生亲核反应；此外，用于癌化疗的这类抑制剂往往是模拟合成 DNA 的前体，一般能被迅速地转运，从而浓集于作用部位，在药代动力学方面增加了选择性。

指向活性部位抑制剂的设计策略包括：①提高结合的特异性，使抑制剂与靶酶结合的 K_i 值很小，以有利于形成 EI。为此，宜使抑制剂的结构尽可能相似于底物，以提高分子识别和结合的能力。②改变或调整活性基团的反应性能，避免因过于活泼或过于惰性而不利于特异性作用，使反应性能与结构的其余部分相匹

配。③ 通过研究酶与底物的作用机制，得出活性部位与底物结合的亲核基团配置，可将反应活性基团连接于抑制剂的适宜位置上，从而增加与酶结合中心的反应潜力。

在抑制剂中引入的化学活性基团有卤代酰基、卤代酮、偶氮甲基酮、环氧基、亚磺酰氟、不饱和键、二硫键、光敏基团等。这类抑制剂与酶的反应速率比类似的非酶反应速率快，例如，具有较好离去基团的有机磷化合物对丝氨酸蛋白酶的不可逆抑制作用是由于在活性部位的丝氨酸处发生磷酰化，酶的磷酰化并非像有机化学中单纯的磷酰化试剂，因为它们对亲核试剂的反应活性并不高。例如对丝氨酸蛋白酶和胆碱酯酶的磷酰化速率比与水反应的速率快 10^8~10^{12} 倍。显然，酶与底物间有利相互作用的结合能有助于催化酶与抑制剂的反应。

指向活性部位的不可逆抑制剂的化学活性基团多为亲电基团，与其发生反应的酶活性部位的基团则是亲核性基团，表 7-3 列出了这些亲电试剂和亲核基团，形成的共价键通常是经酰化、磷酰化、磺酰化或烷基化作用，生成稳定的产物。抑制过程一般是亲电中心首先加上一个质子再与酶的亲核基团反应，所以酶分子的适当部位有亲核性基团，容易发生酶分子中的亲核基团进攻，生成的共价键导致酶的不可逆抑制。

表 7-3 指向活性部位的不可逆抑制剂的反应类型

酶的亲核基团	抑制剂的亲电基团		产物	
氨基 $Enz-NH_2$	酸酐	$RCO-O-COR$	酰胺	$RCO-HN-Enz$
	亚氨酸酯	$RO-C(=NH)R'$	脒	$Enz-NH-C(=NH)R'$
	烷氧基脒	$RO-C(=NH)NHR$	胍	$Enz-NH-C(=NH)NHR$
	酮	$>C=O$	亚胺	$>C=NH-Enz$
	亚胺	$>C=N-R$	亚胺	$>C=NH-Enz$
	芳基磺酰酯	$ArSO_2OR$	芳基磺酰胺	$ArSO_2-NH-Enz$
	异氰酸酯	$R-N=C=O$	脲	$R-NH-C(=O)-NH-Enz$
	环氧化物	R-环氧乙烷	氨基醇	$R-CH(OH)-CH_2-NH-Enz$

续表

酶的亲核基团	抑制剂的亲电基团		产物	
羧基 Enz—COOH	碳二亚胺 + 胺	R—N=C=N—R + R—NH_2	酰胺	Enz—CO—NHR
	环氧化物	R	羟基酯	R—CH(OH)—CH_2—O—CO—Enz
	α-偶氮酰胺	$N_2CHCONHR$	酰胺酯	Enz—CO—O—CH_2—CO—NHR
	α-卤代乙酸盐	X—CH_2COO^-	半酯	Enz—CO—O—CH_2—COO^-
羟基 Enz—OH	氨甲酸酯	RO—C(=O)—NHR	氨甲酸酯	Enz—O—C(=O)—NHR
	卤代磷酸酯	$(RO)_2P(=O)$—X^-	磷酸酯	$(RO)_2P(=O)$—O—Enz
咪唑基 Enz—咪唑(N, NH)	α-卤代酮	X—CH_2—CO—R	烷基咪唑	Enz—咪唑—N—CH_2—CO—O—R
	焦碳酸酯	R—O—CO—O—CO—O—R	N-咪唑甲酸酯	Enz—咪唑—N—CO—O—R
巯基 Enz—SH	环氧化物	R	巯基硫醚	R—CH(OH)—CH_2—S—CO—Enz
	α, β-不饱和羰基	R—CH=CH—CO—CH_3	硫代酮、酯	R—CH(S—Enz)—CH_2—CO—CH_3
	顺丁烯二酰亚胺	顺丁烯二酰亚胺 N—R	硫醚基酰亚胺	Enz—S—琥珀酰亚胺 N—R
	α-卤代羧酸盐	X—CH_2COO^-	硫醚羧酸	Enz—S—CH_2—COO^-
	α-卤代羧酸酯	X—CH_2COOR	硫醚酯	Enz—S—CH_2—CO—O—R

1. 酰化反应型指向活性部位抑制剂

1) 阿司匹林

阿司匹林虽然在 1897 年就开始用作解热镇痛和抗炎药，但直到 1971 年才发现它是通过抑制前列腺素的生物合成而起作用的[43]。花生四烯酸经环氧合酶(cyclooxygenase，COX)催化氧化和一系列反应，生成前列腺素，后者与炎症、发热和疼痛有密切关系，因而抑制环氧合酶是抗炎镇痛药物分子设计的重要环节。实验表明，阿司匹林与环氧合酶温育，可使酶发生不可逆性失活——乙酰化[44]，并证明乙酰化发生在丝氨酸残基上，阿司匹林作为亲和力标记物质是经转酰化反应机制完成的。

阿司匹林　　环氧合酶

研究表明，阿司匹林对 COX-1 的 Ser530 和 COX-2 的 Ser516 残基发生乙酰化，对 COX-1 的抑制作用强于 COX-2 10~100 倍[45]。根据 COX-1 与 COX-2 三维结构的差异，设计合成了一类含有邻-烷硫基乙酰苯酚类似物，由于增大了邻位基团的体积，提高了对 COX-2 选择性结合和乙酰化的作用。其中邻-(乙酰氧苯基)-2-庚炔基硫醚(APHS，59)，对 COX-2 的反应活性强于阿司匹林 60 倍，选择性抑制作用为 100 倍[46]。APHS 还可抑制结肠癌，有望成为较少胃肠道刺激和血液学副作用的抗炎和免疫调节剂。

59

2) β-内酰胺类药物

青霉素、头孢类等抗生素均含有β-内酰胺结构，故称β-内酰胺药物。β-内酰胺药物是杀菌剂，可使细菌的糖肽转肽酶(peptidoglycan transpeptidase)失活。该酶催化的反应是使糖肽发生交叉连接，是细菌合成细胞壁的重要环节。抑制该过程，将导致细菌不能形成细胞壁，使细胞破裂死亡。哺乳动物没有细胞壁，无需该生化过程，因而这类抑制剂选择性作用于细菌。

糖肽是β-D-*N*-乙酰葡萄糖胺(NAG)与β-D-*N*-乙酰胞壁酸(NAM)交叉连接的聚合物。在 NAM 末端的 D-丙氨酰-D-丙氨酸结合于转肽酶上，被裂解后与另一分

子的糖肽的甘氨酸残基交联构成细胞壁。

β-内酰胺类药物被转肽酶的分子识别和结合是由于其结构类似于 D-丙氨酰-D-丙氨酸，分子模拟显示主要原子或基团在空间的位置和取向是相似的[47]。

青霉素　　D-丙氨酰-D-丙氨酸

比较两种结构中氮原子之间、氮与羧基之间的空间位置和距离，可以发现是很相近的，在化学上β-内酰胺环由于与噻唑啉环的并合而被扭曲，活化了羰基，对转肽酶活性中心发生酰化反应，使转肽酶酰化而失活[48]。头孢类并合噻嗪环，环内双键也使β-内酰胺环活化[49]。

β-内酰胺类药物的优点是，化学性质不甚活泼，很少发生非特异性酰化，但容易被转肽酶识别和结合，呈现酰化能力，所以是特异性抗感染药物。

3) 氟尿嘧啶和氟-2′-脱氧尿苷

氟尿嘧啶(5-FU，60)和氟-2′-脱氧尿苷(FUdR，61)作为抗肿瘤药物，是使胸苷酸合成酶发生不可逆失活，阻断了一磷酸脱氧尿苷(dUMP)的生物合成，导致癌细胞“无胸腺嘧啶致死”(thymineless death)。

60　　61

为了了解该抑制作用的机制，首先考察尿苷酸在体内合成胸苷酸的过程。胸苷酸合成酶的活性部位的半胱氨酸残基与2′-脱氧尿苷酸的6位酮基发生迈克尔加成反应，生成烯醇型中间体，后者进攻 N^5，N^{10}-亚甲基四氢叶酸，生成三元复合物(由酶、底物和辅酶构成)。酶催化除去 C5 质子，发生四氢叶酸的β-消去反应，N5 经单电子机制将氢负离子转为到亚甲基上，生成二氢叶酸和酶结合的烯醇式胸苷酸。再经反迈克尔加成，生成胸苷酸。该反应的本质是四氢叶酸的转甲基和氧化反应。图 7-23 是胸苷酸在体内的生合成过程。

图 7-23　胸苷酸的生物合成过程

5-氟-2′-脱氧尿苷酸与胸苷酸合成酶和 N^5，N^{10}-亚甲基四氢叶酸形成三元复合物后，由于 C5 没有质子可供(这是辅酶与酶断开的关键一步)，三元复合物不能分开，使酶失活。所以，该抑制剂使酶失活的原动力是与酶活性部位发生迈克尔加成反应[50]。图 7-24 是 5-氟-2′-脱氧尿苷酸与叶酸的反应过程。

图 7-24　5-氟-2′-脱氧尿苷酸与叶酸的反应过程

然而，5-FU 和 FUdR 本身不能抑制胸苷酸合成酶，需要在体内转化成 5-氟-2′-

脱氧尿苷酸(FdUMP)。呋氟尿嘧啶(ftorafur，62)是氟尿嘧啶的前药，脂溶性较强，口服可在胃肠道吸收，毒性较小，在血液和组织中存留时间较长，在肝脏被 P450 氧化酶代谢成 5-FU，药效优于氟尿嘧啶。

62

2. 置换反应型指向活性部位抑制剂

这类抑制剂与酶的氨基酸侧链发生取代反应，抑制剂分子中的亲电性基团通常是-CH_2CH_2X、-$NHCOCH_2X$ 或-CH_2COCH_2X，X 为溴、氯或氟甲基。

丝氨酸蛋白酶可被含有氯甲基酮的多肽分子抑制，不同组成的多肽链对不同的蛋白酶的亲和力不同，例如胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶或弹性蛋白酶的氨基酸序列不同，抑制剂对它们的结合强度不同，表现出一定的特异性。酶-抑制剂复合物的生成量不同，而由复合物生成共价键的速率却基本一致，所以对酶抑制的差异主要取决于对肽链的亲和力。通常被烷基化的活性中心的残基是组氨酸，生成 *N*-烷基酮化合物(63)。组氨酸残基被烷基化后，酮基又可与活性部位的丝氨酸残基的羟基加成，形成半缩酮(64)。

63　　64

为了提高二氢叶酸还原酶(DHFR)抑制剂的抗菌活性，将碘代乙酰基连接在叶酸类似物(65)的结构中，得到不可逆抑制剂。该化合物是源自乳酸杆菌的 DHFR 失活剂。X 射线晶体衍射证明，结合部位的组氨酸残基被烷基化。抑制过程分两步进行：第一步是形成复合物，特异性和亲和力都很强，例如在 4.5×10^{-9} mol/L 浓度下，仍可置换出 50%标记的甲氨蝶呤与酶的结合；第二步是不可逆的烷化作用，反应速率比较慢，浓度为 1×10^{-7} mol/L 时，$t_{1/2}$ 为 2h。

65

甲氧苄啶的 4′-甲氧基被 *p*-溴乙酰氨苄氧基取代的化合物(66)对淋病奈氏球菌来源的 DHFR 呈现不可逆抑制，但对大肠杆菌的 DHFR 是可逆性抑制，表明该抑制剂的特异性。

66

3-溴乙酰氧基雌酮(67)和 12*β*-溴乙酰氧基-4-雌烯-3,17-二酮(68)可对雌二醇 17*β*-脱氢酶发生不可逆抑制作用，两个烷基化基团分别在 A 环和 C 环上，但都是对酶活性中心的组氨酸的烷化。3-甲氧基雌三醇-16-溴乙酸酯(69)的烷化基团在 D 环上，对雌二醇 17*β*-脱氢酶的不可逆抑制也是使组氨酸残基烷基化。

67　　68　　69

偶氮甲基酮基是很强的烷基化试剂。偶氮丝氨酸(azaserine，70)和 6-偶氮-5-氧代-L-正亮氨酸(DON，71)的化学结构模拟了谷氨酰胺，可抑制谷氨酰胺转移酶，使其失活，阻断了谷氨酰胺转变成谷氨酸。

70　　71

与此偶联的反应是将氨基转移到甲酰甘氨酰胺核苷酸分子上，生成甲酰氨甲基脒基核苷酸，后者是体内合成嘌呤的重要环节，如图 7-25 所示。

图 7-25　体内由谷氨酰胺合成甲酰氨甲基脒基核苷酸的过程

环氧化合物是强亲电性基团，2-十四烷基缩水甘油酸(2-tetradecylglycidic acid，TDGA，72)是肌碱棕榈酸转移酶抑制剂，具有降血糖作用。肌碱棕榈酸转移酶的生化功能是催化棕榈酸辅酶 A 与肌碱反应生成棕榈酰肌碱，调节脂肪酸的氧化代谢。TDGA 与棕榈酸结构具有相似性，可被酰基辅酶 A 合成酶催化变成 TDGA 辅酶 A，后者的环氧基可使肌碱棕榈酸转移酶失活。由于抑制了脂肪酸的氧化，刺激了葡萄糖的利用，TDGA 呈现出降血糖作用。

TDGA 的异构体 3-十四烷基缩水甘油酸(73)因不能生成辅酶 A 衍生物，不能抑制肌碱棕榈酸转移酶，因而没有降血糖作用。

$H_3C(H_2C)_{13}$ O HOOC　　$H_3C(H_2C)_{13}$ O COOH

72　　73

7.2.2.2　基于机制的不可逆抑制剂

这类抑制剂呈现活性是在酶的催化过程实现的。酶催化底物分子生成产物的过程，包含有非反应部位的结合和反应部位键的生成或断裂。基于对催化机制的了解，可设计能够干预酶催化过程并发生不可逆作用的抑制剂。这类抑制剂与底物的结构有很大的相似性，与酶分子有较高的亲和力，它本身没有化学活性或者没有化学活泼基团，但在酶的催化作用下，产生具有化学反应性的亲电性基团，从而就地(*in situ*)与酶活性部位的亲核性基团发生不可逆的结合反应，使酶失活，如图 7-26 所示。基于机制的不可逆抑制剂又称酶的自杀性底物(suicide substrate)或催化常数抑制剂(k_{cat} inhibitor)。

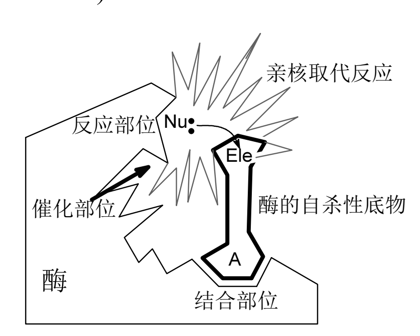


图 7-26　酶的自杀性底物的抑制作用示意图

自杀性底物具有以下的结构特征：

(1) 与正常底物的结构相似；

(2) 可以同酶形成复合物，有较大的亲和力；

(3) 在通常情况下，有低反应性能或化学惰性的基团或结构片段；

(4) 在酶的催化阶段，原有的惰性基团转变为反应性能强的中间体；

(5) 与酶的活性部位发生化学反应，形成共价键合，使酶发生不可逆失活。

由于以上特征和过程，自杀性底物只对酶发生化学反应，有较高的特异性。其反应动力学过程可分为两步：抑制剂(I)与酶(E)结合成复合物(EI)，用平衡常数(即离解常数)K_D 表征；后续发生不可逆反应，以一级反应速率常数 k_{cat} 表征，用下式说明：

$$E + I \underset{}{\overset{K_D}{\rightleftharpoons}} EI \xrightarrow{k_{cat}} E-X$$

图 7-27 示出不同浓度的抑制剂存在下，k_{cat} 值可由剩余的酶活性的对数与反应时间作图，从直线斜率计算得到；k_{cat} 的倒数与抑制剂浓度的倒数作图，得到的直线在横轴上的截距，可求出复合物的离解常数 K_D。

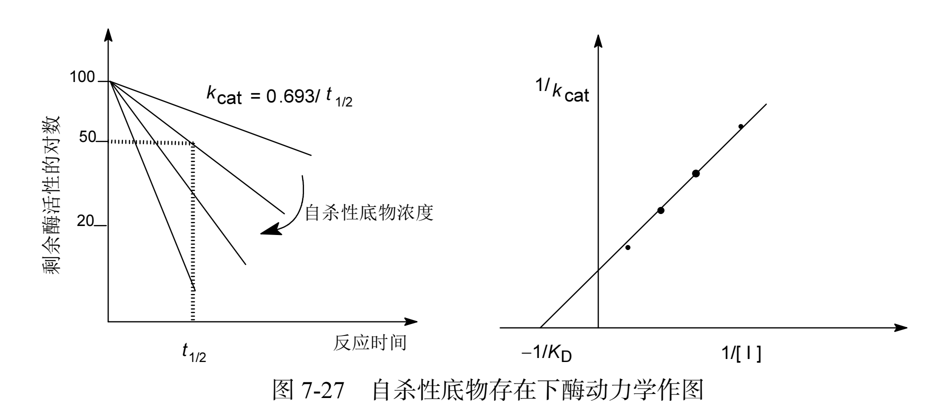


图 7-27　自杀性底物存在下酶动力学作图

酶自杀性底物的特异性是基于它与正常底物的结构相似性，这是酶与抑制剂结合成复合物并经催化反应暴露出化学活泼基团的前提。活泼基团大多是亲电性基团，例如α, β-不饱和羰基(醛、酮、亚胺或酯)，与酶分子的亲核性基团发生迈克尔加成反应(Michael addition)，如图 7-28 所示。

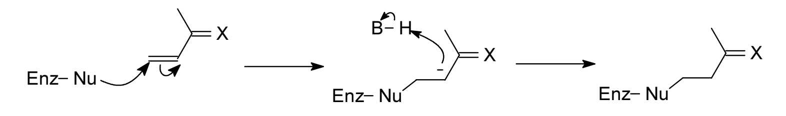


图 7-28　酶与抑制剂的迈克尔加成反应

α, β-不饱和羰基是由酶催化的反迈克尔加成反应生成的，酶夺去碳上的氢，生成负碳型中间体，被电负性强的羰基共振稳定化，使邻位碳发生消去反应或质子化，生成邻位不饱和键(图 7-29)。

图 7-29　酶的自杀性底物生成α, β-不饱和羰基的过程

表 7-4 列出各种自杀性底物所含的官能团和生成的中间体。

表 7-4　酶的自杀性底物的官能团分类

活化前官能团	活化后基团
乙炔基	丙二烯
氰基	烯酮亚胺
乙烯基	共轭双烯
卤素等离去基团	乙烯基，S_N2 型中间体
环丙基	环丙烷酮，环丙基亚胺
醌类	亚胺基醌，醌的亚甲基化合物
正碳离子的前体	正碳离子
β-内酰胺	乙酰基中间体

1. 含炔基的自杀性底物

含炔基的化合物在水溶液中比较稳定，化学反应性能较低。在酶的催化下，炔基的α碳失去质子，生成负碳离子，经离域化生成非常活泼的丙二烯化合物：

R−CH=C=CH−R'

该丙二烯基的中央碳原子的亲电性很强，可与酶活性部位的氨基、巯基和咪唑环等亲核性基团反应，而这些基团由于在催化过程中起重要作用，所以被生成的活泼中间体就地烷基化，使酶失去活性。典型的实例是炔丙基甘氨酸使胱硫醚裂解酶(cystathionine lyase)发生自杀性失活。用 ^{14}C 标记的炔丙基甘氨酸与该酶的反应产物中，分离出标记的 L-2-氨基-4-酮戊酸。抑制过程是，炔丙基甘氨酸与磷酸吡哆醛生成席夫碱，在酶催化下，失去α氢原子，生成的丙二烯将酶活性中心的亲核性基团烷基化，如图 7-30 所示。

图 7-30　炔丙基甘氨酸的作用机制

γ-乙炔基-γ-氨基丁酸(74)是γ-氨基丁酸转氨酶(GABA-T)的自杀性底物，γ-氨基丁酸(GABA)作为中枢神经递质，调节中枢的兴奋和抑制过程。脑内 GABA 水平降低会引起动物和人休克。γ-乙炔基-γ-氨基丁酸由于抑制了 GABA-T，可以对抗电刺激或士的宁引起的小鼠惊厥。酶的失活机制与上述相同。

74

2. 含氰基的自杀性底物

血浆中含有胺氧化酶，可被氨基乙腈失活。腈类抑制剂的作用机制与上述炔类环合相似，被酶催化生成强亲电性的中间体烯酮亚胺。α-氨基丙腈可引起大鼠的骨髓异常，原因是胶原蛋白或弹性蛋白的赖氨酸的ζ-氨基可与该抑制剂反应，使酶失活。过程如图 7-31。

图 7-31　α-氨基丙腈的抑制过程

α-氰基甘氨酸是色氨酸合成酶的自杀性底物，抑制过程也是经过生成烯酮或烯酮亚胺，与酶的亲核性基团发生取代反应。

3. 含烯基的自杀性底物

含有乙烯基的天然产物或合成化合物若被酶催化生成共轭体系，则会对活性部位的氨基酸残基发生烷基化，使酶失活。

乙烯基甘氨酸(75)是 L-天冬氨酸转氨酶或 D-氨基酸转氨酶的自杀性抑制剂，大豆根瘤菌(*Rhizobium japonicum*)的代谢产物根瘤毒素(rhizobitoxin，76)化学名称为 2-氨基-4-(2-氨基-3-羟基丙氧基)-*E*-丁烯酸，结构类似于丙氨酰丁氨酸硫醚(胱硫醚)，是植物和微生物体内胱硫醚β-裂解酶的自杀性抑制剂。根瘤毒素使植物体内的这种酶失活，阻止了果实成熟所必需的乙烯的生成。

75　　　　76

含乙烯基自杀性底物的作用机制是经酶活化后与酶发生迈克尔加成反应。例如，64 在磷酸吡哆醛辅助下，经酶催化失去α-氢离子，负碳离子的电荷转位生成共轭烯胺，C3 有较强的亲电性，与活性中心的 Lys258 侧链的氨基反应，如图 7-32 所示。

图 7-32　乙烯甘氨酸的抑制过程

根瘤毒素抑制胱硫醚β-裂解酶的机制如图 7-33 所示。

图 7-33　根瘤毒素的抑制过程

4. 含有卤素等离去基团的自杀性底物

电负性强的基团如卤素、磺酸或硫酸酯容易携带一对价电子成为负离子而离去，当这类基团的α-位置存在负离子时，由于电子的转移促进了它们的离去，生成的不饱和中间体可与酶活性部位的亲核基团发生迈克尔加成反应(图 7-34)。这类酶的自杀性底物，以含氟原子居多。氟原子体积与氢原子相近，范德华半径为1.35Å，因而氟的引入对立体因素影响较小，但它的电负性很强，如果在氟的邻位生成负离子，就很容易驱使氟携一对电子离去，成为亲电试剂。反之，氟化物的S_N2 反应性能很低，所以含氟化合物构成一类优良的不可逆抑制剂。

图 7-34　含有强电负性原子或基团的自杀性底物的抑制过程

β-氟代-D-丙氨酸对革兰氏阴性菌和阳性菌均都有很强的抗菌作用，是由于抑制了依赖磷酸吡哆醛的丙氨酸消旋酶，阻断了细菌细胞壁的合成。为了提高β-碳原子的反应性，设计合成了β,β,β-三氟丙氨酸，该化合物对胱硫醚γ-裂解酶有强抑制作用。图 7-35 表明，第一个氟原子离去，生成二氟取代的丙烯酸衍生物，与酶的亲核性基团加成后，两个氟原子依次离去，可分离出稳定的酶-自杀性底物的结合产物。

图 7-35　三氟丙氨酸的抑制作用

α-二氟甲基鸟氨酸(DFMO)是鸟氨酸脱羧酶的自杀性底物，鸟氨酸脱羧酶(ODC)是依赖于磷酸吡哆醛、催化鸟氨酸脱羧生成腐胺的酶系，腐胺再缩合成高碳多胺如亚精胺和精胺，对调节细胞的生长和分化起重要作用(图 7-36)。

图 7-36　鸟氨酸的代谢和多胺的生物合成

DFMO 对鸟氨酸脱羧酶的抑制过程如图 7-37 所示。

图 7-37　二氟甲基鸟氨酸的抑制作用

除 DFMO 外，α-乙炔基鸟氨酸(77)、α-乙炔基腐胺 (78)、β,γ-去氢鸟氨酸 (79)、α-氟甲基去氢鸟氨酸 (80)和α-氟甲基鸟氨酸 (81)都是 ODC 的自杀性抑制剂。

5. 其他类型的自杀性底物

(1) 加巴苦林(gabaculine，82)是γ-氨基丁酸转氨酶(GABA-T)的抑制剂，经

GABA-T 的作用而芳构化，生成芳环取代的磷酸吡哆醛(图 7-38)，异加巴苦林(isogabaculine)也可使 GABA –T 失去活性。

82

图 7-38　加巴苦林的抑制过程

(2) 5-硝基正亮氨酸抑制 GABA-T 的作用是分子内形成碳-氮双键，与磷酸吡哆醛亚胺发生环合加成，使酶失活(图 7-39)。

图 7-39　5-硝基正亮氨酸的抑制过程

(3) γ-氯代-δ-亚砜代氨基酸是胱硫醚和甲硫氨酸γ-合成酶的强效抑制剂。经β-消去反应生成双键，再经单键转移反应，生成次磺酸酯，与酶的活性部位发生亲核取代反应(图 7-40)。

图 7-40　γ-氯代-δ-亚砜代氨基酸的抑制过程

(4) 依赖黄素的酶系可催化具有活泼次甲基(methine)的氧化作用，是经过失去氢离子生成碳负离子，负碳离子的电荷可转移到黄素的异咯嗪环的 N^5 或 $C^{4\alpha}$原子上。

如果底物分子含有炔基，则会被依赖黄素的酶活化成丙二烯中间体，例如 L-乳酸氧化酶、羟乙酸氧化酶或 D-乳酸脱氢酶等发生不可逆失活作用。例如α-羟基-丁-3-炔酸是依赖于黄素酶的自杀性底物(图 7-41)。

图 7-41 依赖于黄素酶自杀性底物

依赖黄素的酶系也可催化氧化酮生成酯，类似于有机化学中的 Baeyer-Villiger 反应。硫代内酯是黄素酶环己烯酮氧化酶的自杀性底物，黄素对酰基作亲核进攻，经 1,2-转位生成亲电性的酰化基团亚磺酸，后者可与酶的亲核中心反应，使酶失活(图 7-42)。

图 7-42 硫代内酯的抑制过程

除了酶诱导产生亲电性基团外，自杀性底物还可通过酶的作用暴露出活性基团，以稳定酶-底物形成的复合物。例如丝氨酸蛋白酶催化水解多肽分子，生成酰化酶的中间体，通常会迅速水解。苯甲酰化的α-糜蛋白酶，当苯环上含有推电子基团时，使酰化酶的水解速率减慢。例如 4-氨基苯甲酰α-糜蛋白酶的脱酰基化作用的半衰期为 23 h。所以，丝氨酸蛋白酶的自杀性底物的设计策略是当酶被酰化后，使其暴露出推电子基团，延长其抑制效果(图 7-43)。

图 7-43 苯并噁嗪二酮的抑制作用

图 7-43 说明，苯并噁嗪二酮作为凝血酶抑制剂，首先与酶反应生成酰化酶，后者很容易脱羧生成邻胺基苯甲酰化酶，推电子基团阻止了酶的再生。

一些烯醇和内酯类化合物是蛋白酶和酯酶的自杀性底物，系因酯的水解作用可产生有反应活性的羰基化合物。例如 3-苄基-6-氯代吡喃-2-酮是α-糜蛋白酶的抑制剂，抑制作用是当酶被酰化成酯后，产生酰氯，并迅速水解成羧酸，离解成羧酸根与酶的铵离子形成盐桥，阻止了水分子对酰化的α-糜蛋白酶的水解作用，如图 7-44 所示。

图 7-44　3-苄基-6-氯代吡喃-2-酮的抑制作用

然而 5-苄基-6-氯代吡喃-2-酮对α-糜蛋白酶的抑制则是将活性中心的丝氨酸残基的烷基化作用。烷化反应发生在缺电子的 6 位碳上，可能是 5 位苄基与酶的疏水区的相互作用，有利于在 C6 处发生亲核取代反应，不易进行内酯基的酰化作用。图 7-45 为该疏水作用的示意图。

图 7-45　5-苄基-6-氯代吡喃-2-酮与酶的疏水作用

3-烷氧基-7-氨基-4-氯代异香豆素(83)与酶发生烷基化作用，是由于氯原子与双键的 p-π共轭，使 4 位不会发生亲核取代反应。但当蛋白酶的丝氨酸残基被 1-羧基酯化后，生成有反应活性的 4-氨基氯苄化合物(84)，从而对酶的活性部位发生烷化作用，导致不可逆失活。

83　　　　84

3-苄基-5-氯甲基-吡喃-2-酮(85)对α-糜蛋白酶的失活作用，是酰化后生成β-氯代酮，再经消去反应生成α,β-不饱和酮(86)，86 是强亲电性化合物。

85　　86

二氯异香豆素(87)与丝氨酸蛋白酶反应，首先内酯环打开生成酰化酶，同时得到氯代烯酮(途径 1)或氯代酰氯(途径 2)，酶分子进一步被酰化，生成稳定的二酰化物(图 7-46)，二酰化物的半衰期为 10 h。

87

图 7-46　二氯异香豆素的抑制过程

炔代烯醇内酯(88)与丝氨酸蛋白酶也生成酰化酶，并暴露出丙二烯酮片段，后者容易同酶的亲核性基团发生烷化反应，所以 88 是弹性蛋白酶和胰蛋白酶的强效自杀性抑制剂。

88

β-内酰胺酶抑制剂如克拉维酸(clavulanic acid，89)和青霉烷砜(penem sulfone，90)作为自杀性底物，作用过程首先是β-内酰胺酶被酰化内酰胺环打开，同时产生亲电的亚胺离子或α,β-不饱和酸酯，进而又与酶发生亲核取代反应。

89：X = CH_2；90：X = SO_2

6-β-卤代青霉烷酸(91)是β-内酰胺酶的强效抑制剂，作用机制也是酶催化活化发生自杀性抑制。酶被酰化后，卤素被噻唑烷的硫原子分子内亲核取代(途径 1)或被开环成亚胺，硫负离子作分子内亲核取代(途径 2)。

91

当卤素被取代后，不然发生脱羧反应，此时生成插烯胺基甲酸酯，酰化酶比较稳定，因而失去了活性。

4,4,4-三氟丁-2-酮醇磷酸酯(92)是缩醛酶的自杀性底物，其作用机制是酮基与酶生成亚胺，脱氟化氢生成共轭的亚铵离子，后者对酶的活性部位的半胱氨酸残基发生烷化作用。

失活

92

β-氟代-D-丙氨酸是细菌的丙氨酸消旋酶的抑制剂，作为自杀性底物发挥作用。消旋酶在细胞体内的催化作用依赖于磷酸吡哆醛，将 L-丙氨酸变成 D-丙氨酸，后者用来合成细菌细胞壁所必需的黏肽。氟代丙氨酸与磷酸吡哆醛生成亚铵离子

(93)，在消旋酶的催化下，α-碳成为负离子，并驱动氟离子离去，生成α, β-丙烯酸，后者作为亲电性基团对酶活性中心发生烷化作用。

93

通常一卤代丙氨酸是以磷酸吡哆醛作为辅酶的转氨酶和脱羧酶的自杀性底物，抑制的机制也是经过氨基酸的α-碳生成负碳离子，脱卤成亲电试剂。

7.3　双(多)底物类似物抑制剂

7.3.1　原理

一些酶进行的催化反应需要有两个或两个以上的底物同时反应，参与酶反应的辅助因子(cofactor)也作为一个底物，与酶的正常底物同时结合于酶分子上，形成三元(ternary)或多元(multiplex)复合物。如果将两个底物主要结构片段连接成单一分子，而且基团的配置与酶的活性部位结合时，就能够类似于酶正常的催化反应的过渡态结构，起到抑制作用，这种“凝结”了两个底物分子关键结构的单一分子就可以成为该酶的特异性抑制剂，称作双(多)底物类似物抑制剂(dual (multi-) substrate analogue inhibitors)。酶与两个底物反应需要三个分子同时而正确的排布才能起到催化作用，要损失一些熵效应；而双底物类似物抑制剂与酶的结合是双分子反应，所以，这种抑制剂与酶结合的熵效应是有利的。此外，双底物类似物抑制剂一般难以被其他酶分子识别和结合，因而特异性较强。

一个抑制剂可以同时作用于两种或(多种)酶系，这是双(多)靶标药物基本特征，与本节讨论的双底物类似物抑制剂的设计策略是不同的。

原则上讲，任何需要两个或多个底物同时与一个酶结合的反应，都可以设计多底物类似物抑制剂。例如甲基转移酶(methyl transferase)，甲酰转移酶(formyl transferase)，乙酰转移酶(acetyl transferase)，脱氢酶(dehydrogenase)，羟化酶(hydroxylase)，激酶(kinase)，二氢蝶酸合成酶(dihydropteroate synthase)，亚精胺合成酶(spermidine synthase)，天冬氨酸氨甲酰转移酶(aspartate carbamoyl transferase)和胸苷酸合成酶(thymidylate synthase)。

7.3.2　天冬氨酸氨甲酰转移酶

L-天冬氨酸氨甲酰转移酶催化氨甲酰磷酸(carbamoyl phosphate) 的氨甲酰基转移到 L-天冬氨酸分子上，生成 *N*-氨甲酰天冬氨酸。*N*-氨甲酰天冬氨酸是嘧啶 *de novo* 生物合成必需的前体(图 7-47)。

图 7-47　*N*-氨甲酰天冬氨酸的生成过程

通过模拟 L-天冬氨酸氨甲酰转移酶、氨甲酰磷酸和 L-天冬氨酸结合的三元复合物的结构，设计合成了膦酸乙酰-L-天冬氨酸(phosphonoacetyl-L-aspartate，PALA，83)，该化合物与 L-天冬氨酸氨甲酰转移酶的亲和力强于两个底物上千倍。与酶结合时分子发生构象变化，同样 PALA 也使酶分子构象发生了变化。PALA 抑制 L-天冬氨酸氨甲酰转移酶活性，导致肿瘤细胞和病毒增殖时嘧啶的匮乏，临床用作抗病毒药物和抑制多药耐药细胞株，名称为 sparfosic acid。

94

7.3.3　胸苷酸合成酶

胸苷酸合成酶利用两个底物：一磷酸-2′-脱氧尿苷(dUMP)和 5,10-亚甲四氢叶酸(5,10-methylene tetrahydrofolate)，催化反应产物是胸苷酸，胸苷酸是合成 DNA 必需的核苷酸。在催化过程中，酶与两个底物形成三元复合物(95)，结构如下：

95

Mertes 等将 2′-脱氧尿苷一磷酸经亚甲基与四氢喹喔啉(tetrahydroquinoxaline，96)相连接，成为胸苷酸合成酶的二底物类似物抑制剂，有中等程度的抑制活性(K_i = 0.75 μmol/L)。进而设计了二元复合物的脱氨类似物(97)，活性提高，K_i = 0.03 μmol/L，与酶的结合强度比同两个底物的结合高 2 个数量级。

96　　97

7.3.4　法呢基蛋白转移酶

法呢基蛋白转移酶(farnesyl protein transferase，FTase)是催化癌基因产物 ras 蛋白与焦磷酸法呢醇反应的酶系，ras 蛋白在细胞生长和增殖过程中起信号转导作用。当 *ras* 基因发生突变，细胞生长信号的失控导致细胞增殖与癌变。在信号转导过程中，ras 蛋白结合到细胞膜内侧方能起作用，为此，需在法呢基蛋白转移酶催化下进行法呢基化，提高底物的亲脂性以与细胞膜结合。

在 ras 蛋白的 C 端具有向外伸展的四肽结构片段 CA_1A_2X，C 为半胱氨酸，A_1 和 A_2 为疏水性氨基酸，X 为甲硫氨酸或丝氨酸残基。法呢基化发生在半胱氨酸残基上，形成共价结合(图 7-48)。

FTase

图 7-48　ras 蛋白法呢基化的示意图

该反应是一个将双底物连接成一个分子的反应，双底物类似物抑制剂模拟催化反应的过渡态结构，对 FTase 有强亲和性而抑制了酶活性[51]。化合物 BMS-

186511(98)为法呢基膦酸丙酰三肽化合物，对 FTase 的抑制活性 IC_{50} 为 6 nmol/L[52]。

98

7.3.5　HIV 蛋白酶

艾滋病病原体 HIV 病毒具有编码天冬氨酸蛋白酶的遗传信息，用来加工病毒的 gag 和 gag-pol 多聚蛋白成结构蛋白和功能蛋白，使病毒成熟而具有传染性。所以，抑制 HIV 蛋白酶可阻止病毒的增殖。根据拟肽类抑制剂与 HIV 蛋白酶的 X 射线晶体结构，发现一分子的结构水与酶的 Ile50 和 Ile50′以及拟肽的两个羰基之间形成氢键，这个结构水是 HIV 蛋白酶特有的，而人体的蛋白酶如肾素则没有。此外，酶的 Asp25 和 Asp25′的羧基与拟肽的羟基也形成氢键(图 7-49(a))。基于这些结构生物学信息，合成的环脲化合物具有对 HIV 蛋白酶强抑制作用，脲基的氧原子履行了结构水的功能，“融合”在抑制剂结构中，将水解过程的三元系统简化为双分子作用，获得有利的熵效应。并根据酶对氢键和疏水环境的要求，预构建的互补性对称环脲(图 7-49(b))。其中莫折那韦(mozenavir，99)处于临床研究阶段[53]。

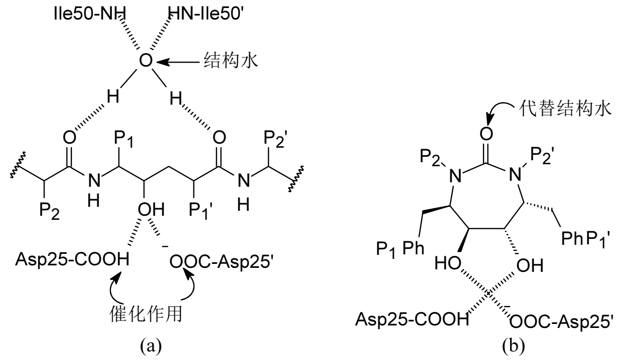


图 7-49　(a) HIV 蛋白酶与拟肽抑制剂复合物结构的结构水和氢键；(b) 环脲的羰基氧履行结构水的功能

99

参 考 文 献

[1] Wouters W, van Dun J, Dillen A, et al. Effects of liarozole, a new antitumoral compound, on retinoic acid-induced inhibition of cell growth and on retinoic acid metabolism in MCF-7 human breast cancer cells. Cancer Res, 1992, 52: 2841-2846

[2] Kirby A J. Effective molarities for intramolecular reactions. Adv Phys Org Chem, 1980, 17: 183-278

[3] Gerlt J A, Kozarich J W, Kenyon G L, et al. Electrophilic catalysis can explain the unexpected acidity of carbon acids in enzyme-catalyzed reactions. J Am Chem Soc, 1991, 113:9667-9669

[4] Marshall E K, Kraut J. Serine proteases: structure and mechanism of catalysis. Ann Rev Biochem, 1977, 46:331-358

[5] Bryan P, Pantoliano M W, Quill S G, et al. Site-directed mutagenesis and the role of the oxyanion hole in subtilisin. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83: 3743-3745

[6] Carter P, Wells J A. Dissecting the catalytic triad of a serine protease. Nature(London), 1988, 332: 564-568

[7] Covitz F, Wesrheimer FH. The Hydrolysis of Methyl Ethylene Phosphate: Steric Hindrance in General Base Catalysis. J Am Chem Soc, 1963,85:1773-1777

[8] Jencks W P. Economics of enzyme catalysis. Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol, 1987, 52: 65-73

[9] Grund S M. Cholesterol metabolism in man. West J. Med. 1978, 128: 13-25

[10] Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterogenesis produced by Penicillium citrinum. J Antibiotics, 1976, 29: 1346-1348

[11] Alberts A W, Chen J, Kuron G, et al. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. Proc Natl Acad Sci USA, 1980, 77: 3957-3961

[12] Quiocho F A, Lipscomb W N. Carboxypeptidase A : a protein and an enzyme. Adv Protein Chem, 1971, 25: 1-78

[13] Byers L D, Wolfenden R. Binding of the byproduct analog benzylsuccinic acid by carboxypeptidase A. Biochem, 1973, 12: 2070-2078

[14] Cushman D W, Cheung H S, Sabo E F, et al. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin- converting enzyme carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. Biochem, 1977, 16: 5484-5491

[15] Patchett A A, Harris E, Tristram E W, et al. A new class of angiotensin-converting enzyme

inhibitors. Nature(London), 1980, 288: 280-283
[16] Johnston J O, Wright C L. Biochemical and Endocrine Properties of a Mechanism-Based Inhibitor of Aromatase. Endocrinology, 1984, 115: 776-785
[17] Okamoto K, Eger B T, Nishino T, et al. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase. Crystal structure of the enzyme-inhibitor complex and mechanism of inhibition. J Biol Chem,2003, 278: 1848-1855
[18] 郭宗儒. 抗炎药物的研制: 环氧合酶的适度抑制策略. 药学学报, 2005, 40: 967-969
[19] Samuelsson B. Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. Science, 1983, 220: 568-575
[20] Laufer S A, Augustin J, Dannhardt G X. (6,7-Diaryldihydropyrrolizin-5-yl)acetic acids, a novel class of potent dual inhibitors of both cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. J Med Chem, 1994, 37: 1894-1897
[21] Rouzer C A, Ford-Hunchinson A W, Morton H E, et al. MK886, A potent and specific leukotriene biosynthesis inhibitor blocks and reverses the membrane association of 5-lipoxygenase in ionophore-challenged leukocytes. J Biol Chem, 1990, 265: 1436-1442
[22] Lee Y S, Chen Z, Kador P F. Molecular modeling studies of the binding modes of aldose reductase inhibitors at the active site of human aldose reductase. Bioorg Med Chem, 1998, 6: 1811-1819
[23] Inukai S, Agata M, Sato M, et al. Characterization of a novel aldose reductase inhibitor, TAT, and its effects on streptozotocin-induced diabetic neuropathy in rats. Jpn J Pharmacol, 1993, 61: 221-227
[24] Ishii A, Kotain T, Nagaki Y, et al. Highly selective aldose reductase inhibitors. 1.3-(Arylalkyl)-2,4,5- trioxoimidazolidine-1-acetic acids. J Med Chem, 1996, 39: 1924-1927
[25] Ko K, Won H, Won Y. Quantitative structure-activity relationship of spirosuccinimide type aldose reductase inhibitors dimishing sorbitol sccumulation in vivo. Bioorg Med Chem, 2006, 14: 3090-3097
[26] Christensen S B, Guider A, Forster C J, et al. 1,4-Cyclohexanecarboxylates: Potent and selective inhibitors of phosphodiesterase 4 for the treatment of asthma. J Med Chem, 1998, 41: 821-835
[27] Spina D. Phosphodiesterase-4 inhibitors in the treatment of inflammatory lung disease. Drugs, 2003, 63: 2575-2594
[28] Nagamoto H, Takemura I, Kitano K, et al. Novel thiazole derivatives as inhibitors of superoxide production by human neutrophils: Synthesis and structure-activity relationships. J Med Chem, 1995, 38: 353-358
[29] Bernhard S A, Orgel L E. Mechanism of enzyme inhibition by phosphate esters. Science, 1959, 130: 625-626
[30] Wolfenden R// Jakoby W B, Wilchek M. Methods in Ezymology. New York: Academic Press, 1977, vol 46, 15
[31] Stark G R, Bartlett P A. Design and use of potent, specific enzyme inhibitors. Pharmacol. Ther. 1983, 23: 45-78
[32] Gerlt J A, Gassmann P G. An explanation for rapid enzyme-catalyzed proton abstraction from

carbon acids: importance of late transition states in concerted mechanisms. J Am Chem Soc, 1993, 115: 11552-11568

[33] James M N, Sielecki A R. Structure and refinement of penicillopepsin at 1.8 A resolution. J Mol Chem, 1983, 163: 299-361

[34] Allen A C, Fuhrer W, Tuck B, et al. Renin inhibitors. Synthesis of transition-state analog inhibitors containing phosphorus acid derivatives at the scissile bond. J Med Chem, 1989, 32: 1652-1661

[35] Boger J, Lohr N S, Ulm E H, et al. Novel renin inhibitors containing the amino acid statine. Nature(London), 1983, 303: 81-84

[36] Boger J, Payne L S, Perlow D S, et al. Renin inhibitors. Syntheses of subnanomolar, competitive transition-state analog inhibitors containing a novel analog of statine. J Med Chem, 1985, 28: 1779-1790

[37] Luly J R, BaMaung N, Soderquist J, et al. Renin inhibitors. Dipeptide analogues of angiotensinogen utilizing a dihydroxyethylene transition-state mimic at scissile bond to impart greater inhibitory potency. J Med Chem, 1988, 31: 2264-2276

[38] Agarwahl R P, Spector P, Parks R E Jr. Tight-binding inhibitors—IV. Inhibition of adenosine deaminases by various inhibitors. Biochem Pharmacol, 1977, 26:359-367

[39] Bernstein P R, Bohnert C M, Veale C A, et al. Orally active trifluoromethyl ketone inhibitors of human leukocyte elastase. J Med Chem, 1997, 40 : 3173-3181

[40] Tang J, James M N G, Hsu I N, et al. Structural evidence for gene duplication in the evolution of the acid proteases. Nature, 1977, 271: 618-621

[41] Hyland L J, Tomaszek T A, Meek T D. Human immunodeficiency virus-1 protease. 2. Use of pH rate studies and solvent kinetic isotope effects to elucidate details of chemical mechanism. Biochemistry, 1991, 30: 8454-8463

[42] Bold G, Fassler A, Capraro H G, et al. New aza-dipeptide analogues as potent and orally absorbed HIV-1 protease inhibitors: Candidates for clinical development. J Med Chem,1998, 41: 3387-3401

[43] Vane J R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. Nature(London), New Biol, 1971, 231: 232-235

[44] van der Ouderaa F J, Buytenhek M, Nugteren D H, et al. Acetylation of prostaglandin endoperoxide synthetase with acetylsalicylic acid. Eur J Biochem, 1980, 109: 1-8

[45] Itohara S, Mombaerts P, Lafaille J, et al. T cell receptor δ gene mutant mice: Independent generation of αβ T cells and programmed rearrangements of γδ TCR genes. Cell, 1993, 72: 337-348

[46] Kalgutkar A S, Crews B C, Rowlinson S W, et al. Aspirin-like molecules that covalently inactivate cyclooxygenase-2. Science, 1998, 280: 1268-1270

[47] Tipper D J, Strominger J L. Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. Proc Nat Sci USA, 1965, 54: 1133-1141

[48] Izaki K, Matsuhashi M, Strominger J L. Biosynthesis of the peptidoglycan of bacterial cell walls: XIII. Peptidoglycan transpeptidase and D-alanine carboxypeptidase: penicillin-sensitive

enzymatic reaction in strains of Escherichla coli. J Biol Chem, 1968, 243:3180-3192

[49] Sweet R M, Dahl L F. Molecular architecture of the cephalosporins. Insights into biological activity based on structural investigations. J Am Chem Soc, 1970, 92: 5489-5507

[50] Santi D V, McHenry C S, Raines R T, et al. Kinetics and thermodynamics of the interaction of 5-fluoro-2'-deoxyuridylate with thymidylate synthase. Biochemistry, 1987, 26: 8606-8613

[51] Martin S, Markus B, Isabel S, et al. Design, synthesis and early structure–activity relationship of farnesyltransferase inhibitors which mimic both the peptidic and the prenylic substrate. Bioorg Med Chem, 2000, 8: 1991-2006

[52] Manne V, Yan N, Carboni J. Bisubstrate inhibitors of farnesyltransferase: A novel class of specific inhibitors of ras transformed cells. Oncogene, 1995, 10: 1763-1779

[53] Lam P Y S, Ru Y, Jadhav P K, et al. Cyclic HIV protease inhibitors. Synthesis, conformational analysis, P2/P2′ structure-activity relationship and molecular recognition of cyclic ureas. J Med Chem, 1996, 39: 3514-3525

第8章　肽 模 拟 物

8.1　引　　言

8.1.1　活性肽类化合物

蛋白质是组成人体的主要成分之一，它构成了机体的必要结构成分，也执行许多生理生化功能，是生命过程的重要物质。酶和大多数受体是有特异性功能的蛋白质分子，它们与相应的配体(底物、抑制剂、激动剂或拮抗剂)相互作用，调节机体的重要物质成分的生成和代谢，维持身体内环境的平衡。

机体内还存在另一类蛋白质和肽类化合物，如激素、神经递质、免疫调节剂、细胞因子等，具有许多生理活性。这些肽类物质与其相应的受体分子相结合，产生特定的生物效应。所以，通过对活性肽的结构、性质和功能的研究，可以揭示它们作为特定受体的激动作用或拮抗作用，了解调节细胞生长、增殖、分泌、神经传导机制，或者作为酶的底物或抑制剂，通过特定的反应机制，调节控制酶的活性。活性肽在药物研究中占有重要地位，下面简要讨论具有代表性的肽类活性分子，左端为氨基端或称 N 端，右端为羧基端或称 C 端，从 N 端到 C 端的连接基团是肽键－CONH－，每个圆圈代表一个氨基酸。

(1) 促甲状腺释放激素(thyrotropin-releasing hormone)，三肽，产生于垂体前叶，其作用是促进血浆中游离碘向甲状腺组织的摄入。

PYRO—Glu His Pro—NH_2

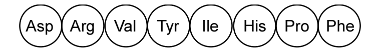
(2) 增免疫苏精肽(tuftsin)，四肽，由血液中的球蛋白细胞激动素经裂解 Lys288-Thr239 和 Arg292-Gly293 而生成，为免疫调节因子，其作用是抗肿瘤免疫调节和细胞吞噬作用。

Thr Lys Pro Arg

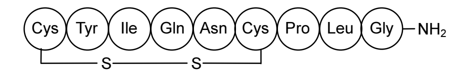
(3) Met-脑菲肽(Met-enkephalin)，五肽，产生于脑和小肠，与内菲肽、强菲肽和 Leu-脑菲肽同属于内源性阿片受体的激动剂，具有强效止痛作用。



(4) 血管紧张素 II(angiotensin II)，八肽，是由血管紧张素原(angiotensinogen)经肾素(renin)水解而成，生成血管紧张素 I(angiotensin I)，为十肽，后者经血管紧张素转化酶催化自羧端裂解两个氨基酸，生成血管紧张素 II，具有强效收缩血管和升血压作用。



(5) 催产素(oxytocin)，环九肽，储存于垂体后叶，具有收缩子宫、催乳和中枢神经作用。



(6) 抗利尿激素(antidiuretic hormone) 又称后叶加压素(vasopressin)，为环状九肽，储存于垂体后叶，与催产素为同源肽，二者的区别是第 3 和第 8 个氨基酸残基不同。作用于远曲肾小管，增加水的重吸收，也有中枢神经系统作用。

Cys Tyr Phe Gln Asn Cys Pro Arg Gly —NH_2
S—S

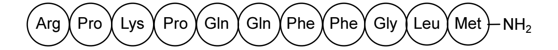
(7) 缓激肽(bradykinin)，九肽，由血浆中糖蛋白经激肽释放酶裂解而成，具有舒张血管、增加血管通透性和促进白细胞移行作用。

Arg Pro Pro Glu Phe Ser Pro Phe Arg —NH_2

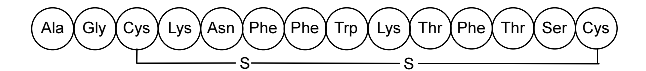
(8) 促性腺激素释放激素(gonadotrophin-releasing hormone)，又称促黄体激素释放激素(luteinizing hormone-releasing hormone，LHRH)，十肽，产生于下丘脑，其作用是促进黄体激素的释放。

5-OXO— Pro His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly —NH_2

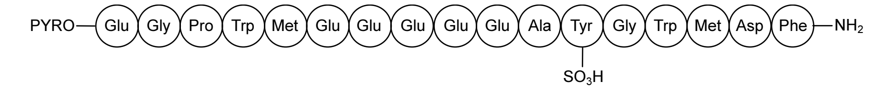
(9) P 物质(substance P)，十一肽，储存于感觉神经元，具有介导痛觉和炎症的作用。



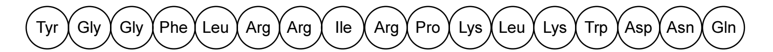
(10) 生长抑素(somatostatin)，环十四肽，储存于下丘脑，抑制垂体释放生长激素，并抑制胰岛素、胰高血糖素、胃泌素和胰泌素等的分泌。



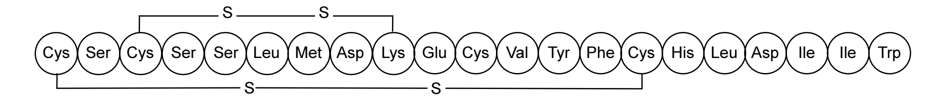
(11) 胃泌素(gastrin)，十七肽，产生于胃与小肠交界的胃黏膜处，刺激胆碱能神经而产生并分泌到血液中，促进胃酸、胃液和胰液的分泌。



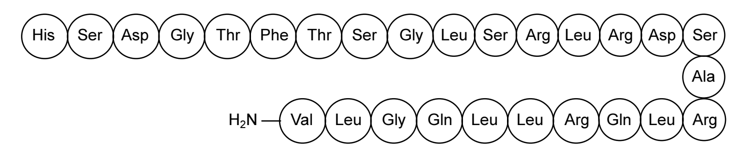
(12) 强啡肽(dynorphin)，十七肽，存在于神经元部位，具有调节大脑海马区谷氨酸的兴奋性作用。



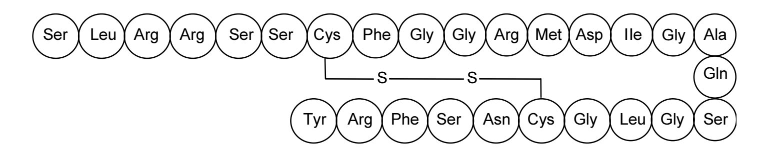
(13) 内皮素(endothelin)，二十一肽，产生于内皮细胞，具有收缩血管和促进细胞分裂作用，以及调节神经递质释放的作用。



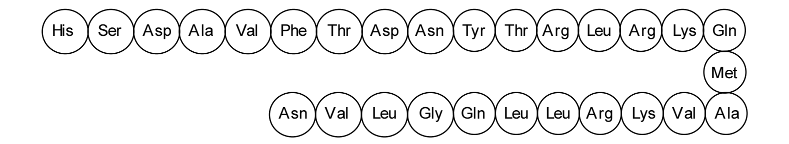
(14) 胰泌素(secretin)，二十七肽，由于酸的刺激在十二指肠中产生，促进胰腺分泌碱液，以中和进入十二指肠的胃酸。



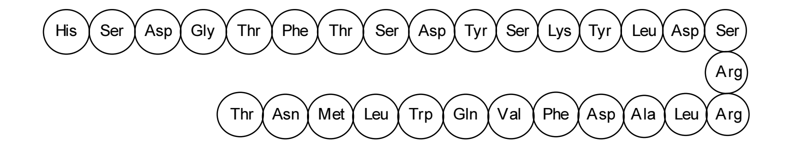
(15) 前房尿钠排泄因子(atrial natriuretic factors)，二十七肽，存在于哺乳动物的心房中，刺激排钠利尿作用，降低动脉血压。



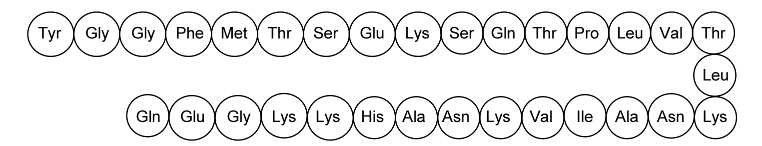
(16) 血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptides，VIP)，二十八肽，分布于十二指肠、神经系统和分泌细胞中，具有舒张血管、增加心脏收缩和糖原分解的作用，也是一种生长因子。



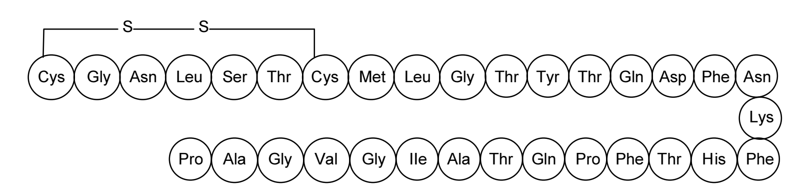
(17) 胰高血糖素(glucagon)，二十九肽，产生于胰脏，释放到血液中，刺激糖原和氨基酸生成葡萄糖。



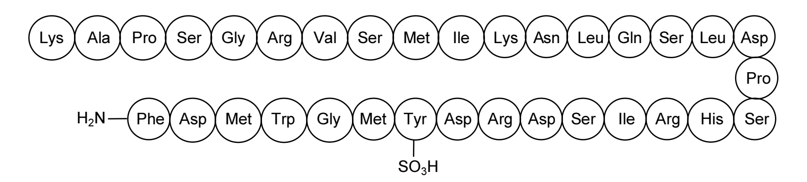
(18) β-内啡肽(β-endorphin)，三十一肽，存在于下丘脑处，具有止痛、促进生长激素与催乳激素释放的作用。



(19) 降钙素(calcitonin)，三十二肽，产生于甲状腺中的特异细胞，其作用是降低骨中钙向血液的释放。

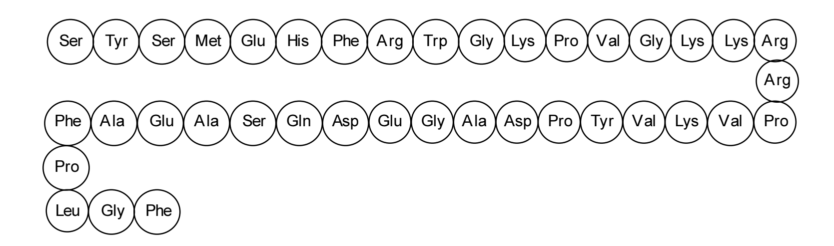


(20) 缩胆囊素(cholecystokinin) 又称肠促胰酶肽，三十三肽，存在于十二指肠黏膜处，可引起胆囊收缩，刺激胰酶释放，在中枢神经系统中可消除吗啡的止痛作用。



(21) 促皮质激素(corticotropin) 即促肾上腺皮质激素(ACTH)，三十九肽，产生于垂体前叶，促进肾上腺皮质将胆固醇转变成甾体激素如皮质醇和醛固酮等，

分别促进钠潴留和肝糖原聚积。



生物活性肽多为柔性分子，在体内的不同环境中可采取不同的构象，从而可被不同的受体识别和结合，导致不同的生物活性，所以，上述的每个活性肽的生理作用往往是多方面的。在病理状态下，可能由于某种肽的过高或过低的表达，或其受体活性亢进或低下，导致疾病状态。所以，调节和干预活性肽与其受体的相互作用，成为药物研究的重要领域。为了调节而不是全面地抑制活性肽的产生和引发的生理效应，就需要对某个肽分子作构象的限制，调节其某一方面的功能。

8.1.2　肽类化合物的结构特征

肽和蛋白质是由相同或不同的氨基酸经线性组合而成，构成的链状或环状寡聚或多聚物。这类物质是由氨基酸的α氨基与另一个氨基酸的羧基缩合脱水而成，连接处为酰胺键或称肽键。构成人体的天然氨基酸共有 21 个，均为 L-构型，其名称、缩写词和结构列于表 8-1。

表 8-1　天然 L-氨基酸名称，结构和缩写词

中文名	英文名	缩写词	代码	结构
甘氨酸	Glycine	Gly	G	●—H
丙氨酸	Alanine	Ala	A	●—CH_3
缬氨酸	Valine	Val	V	●—$CH(CH_3)CH_3$
异亮氨酸	Isoleucine	Ile	I	●—$CH(CH_3)CH_2CH_3$
亮氨酸	Leucine	Leu	L	●—$CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$
苯丙氨酸	Phenylalanine	Phe	F	●—CH_2—C_6H_5

续表

中文名	英文名	缩写词	代码	结构
脯氨酸	Proline	Pro	P	HOOC–(吡咯烷环, NH)
甲硫氨酸	Methionine	Met	M	●—$CH_2CH_2SCH_3$
色氨酸	Tryptophan	Trp	W	●—CH_2—(吲哚环, N–H)
半胱氨酸	Cysteine	Cys	C	●—CH_2SH
丝氨酸	Serine	Ser	S	●—CH_2OH
苏氨酸	Threonine	Thr	T	●—$CH(OH)\cdot CH_3$
天冬氨酸	Aspartic acid	Asp	D	●—CH_2COOH
谷氨酸	Glutamic acid	Glu	E	●—CH_2CH_2COOH
酪氨酸	Tyrosine	Tyr	Y	●—CH_2—(苯环)—OH
组氨酸	Histidine	His	H	●—CH_2—(咪唑环, N, N–H)
赖氨酸	Lysine	Lys	K	●—$CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$
鸟氨酸	Ornithine	Ort	O	●—$CH_2CH_2CH_2NH_2$
天冬酰胺	Asparagine	Asn	N	●—CH_2CONH_2
谷氨酰胺	Glutamine	Gln	Q	●—$CH_2CH_2CONH_2$
精氨酸	Arginine	Arg	R	●—$CH_2CH_2CH_2NHC(=NH)NH_2$

注：●— = $H_2N-CH(COOH)-$。

除甘氨酸外，其余天然氨基酸均含有手性碳原子，为 L 构型。

构成肽键的酰胺片段，具有部分双键性质，因而由 C_1^α-C_1-N_{i+1}-C_{i+1} 构成的肽键基本为一平面，一般呈反式构象存在，角度用ω表示，大约 $180^\circ\pm10^\circ$。由 C_{i-1}-N_i-C_1^α-C_i 定义的两面角用 φ 表征，由 N_i-C_1^α-C_i-N_{i+1} 定义的两面角用 ψ 表示。在肽链中 φ 和 ψ 两个扭角可有较大的变化，反映了肽分子的柔性程度及其构象。肽的空间构象是由连续的氨基酸残基的 φ 角和 ψ 角所决定。另一个可变化的角度是各个氨基酸残基的α碳连接的侧链在空间的取向，由于单键的

转动，造成原子在空间的不同位置，这些角度用χ_1, χ_2, …表示。图 8-1 表示了这些二面角的定义。

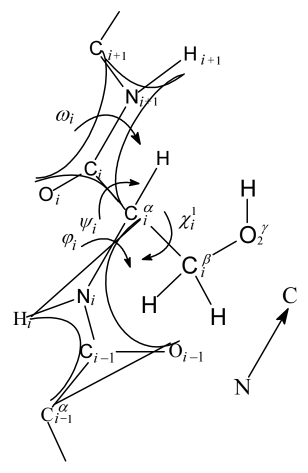


图 8-1　肽链的二面角 ω、φ、ψ 和 χ 的定义

蛋白质或肽分子中由于未相连接的原子或基团在空间的相互作用，导致肽侧链之间发生结合或排斥。若发生结合作用，则紧固成折叠形式，并且除少数情况外，大都将水分子挤出链外。这种结合的本质是非共价键作用，例如形成盐键、疏水作用和氢键等，取决于肽键和侧链上特定基团的性质，这些非共价结合对维持多肽或蛋白质的结构和功能起重要作用。

8.1.3　影响构象的因素

8.1.3.1　盐键

某些碱性氨基酸残基如赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸等，其侧链上的氨基或胍基在生理 pH 环境下呈正离子—NH_3^+形式；某些酸性氨基酸残基如天冬氨酸和谷氨酸侧链的羧基离解成负离子—COO^-的形式，正离子和负离子之间的静电引力，形成盐键。例如血红蛋白的α-亚基的 Lys10 与β-亚基的 C-端羧基形成盐键，但氧合血红蛋白中无此盐键，当分子氧被释放后，则形成盐键以稳定血红蛋白的结构。组蛋白富含赖氨酸和鸟氨酸，其正电荷大多与 DNA 的磷酸基负电荷形成盐键。许多蛋白质或肽侧链的电荷还可与水分子发生电荷-偶极作用。

8.1.3.2　疏水作用

某些非极性的氨基酸残基如苯丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸等，其侧链在水性介质中会趋于相互结合，产生有利的熵效应，这就是疏水固缩作用(hydrophobic

collapse)，酶或受体蛋白分子中的疏水腔穴(hydrophobic pocket)或疏水裂隙(hydrophobic cleft)就是这样形成的。

在水性介质中的蛋白质分子通常将疏水性侧链置于分子三维结构的内部，这是能量上的有利驱动，对于稳定肽和蛋白质结构起重要作用。通过对各种氨基酸在有机溶剂-水系统中分配性质的研究，可定量地估算肽分子中各种氨基酸残基的疏水性质，表 8-2 列出了部分氨基酸疏水键合的能量变化。这些数据表明，随着侧链的极性增加，疏水键合的自由能降低[1]。

表 8-2　氨基酸疏水键合的能量变化

氨基酸	自由能变化/(kcal/mol)	氨基酸	自由能变化/(kcal/mol)
色氨酸	3.4	甲硫氨酸	1.3
苯丙氨酸	2.5	组氨酸	0.5
酪氨酸	2.3	丙氨酸	0.5
亮氨酸	1.8	苏氨酸	0.4
缬氨酸	1.5	丝氨酸	−0.3

8.1.3.3　氢键

肽链中的 C=O 氧是氢键接受体，可与空间上位置适宜的氢键给体—NH—或—OH 相结合生成氢键，对于维持肽和蛋白质的二级与三级结构有非常重要的意义。氢键虽然较弱，能量大约为−5 kcal/mol，但分子中存在众多的氢键足以起到稳定作用。氢键具有方向性，在空间形成不同取向的氢键，会使肽链以不同的形式存在，例如α螺旋、β折叠和不规则结构的形成都是由于不同方向的氢键所致，构成了肽链的二级结构。

8.1.3.4　肽的二级结构

肽的二级结构系指肽链的骨架发生盘旋和曲折，最常见的是呈螺旋样结构，称作α螺旋(α-helix)。人体蛋白质的α螺旋通常为右手螺旋，每一圈螺旋由 3.6 个氨基酸残基构成，螺旋是由氢键所维持，是在同一条肽链上第 i 个氨基酸残基的 C=O 与第 i+4 个残基的 NH 形成氢键，自碳原子到氮原子的距离为 3.5 Å。该氢键的方向基本与螺旋轴平行。α螺旋的 φ=−57°，ψ=−47°。图 8-2 为α螺旋和氢键的示意图。

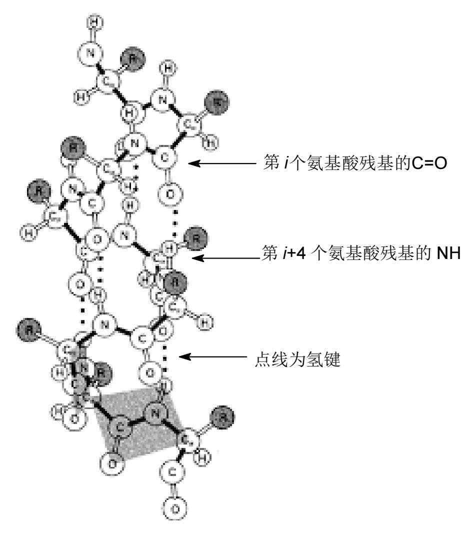
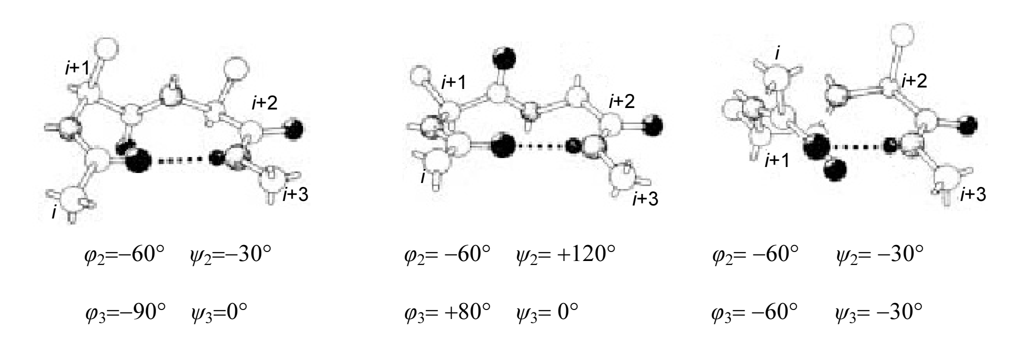


图 8-2　肽类α螺旋示意图

另一种二级结构是β转折，是由第i个残基的CO与第i+3个残基的NH形成氢键所致[2]，由于形成了发卡式转折，使多肽链在空间的走向发生急剧的改变，图8-3所示的是3种β转折形成的二级结构的形状和二面角φ与ψ的角度。



φ_2=−60°　ψ_2=−30°　　φ_2= −60°　ψ_2= +120°　　φ_2= −60°　ψ_2= −30°

φ_3=−90°　ψ_3=0°　　φ_3= +80°　ψ_3= 0°　　φ_3= −60°　ψ_3= −30°

图 8-3　肽链二级结构的β转折

β片层是在两个或两个以上正向平行或相反平行的肽链之间经氢键结合所形成的二级结构，此时氢键的方向与肽链的主轴呈垂直取向。β折叠的φ为−139°，ψ 角为+135°。含有β折叠结构的蛋白质例如有胃蛋白酶、羧肽酶(正向平行)以及糜蛋白酶和溶酶体(反向平行)，阿茨海默病患者的β淀粉样蛋白也含有β片层。图8-4 为β折叠结构示意图。

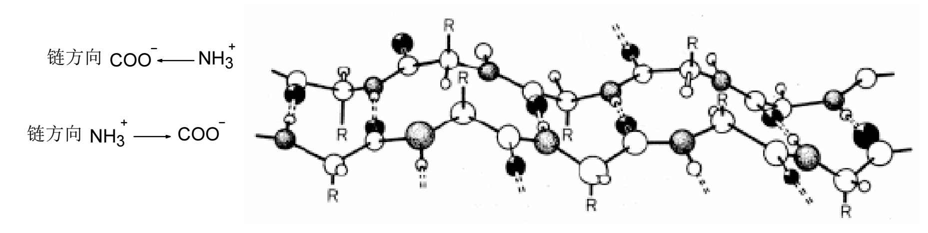


图 8-4　β折叠结构示意图

蛋白质肽链的二级结构通过不同的组装，可形成各异的折叠方式，例如一系列α螺旋和β折叠交替连接形成 Rossmann 折叠，或者多个β转折形成曲折(meander)或桶形结构(barrel)等，这些结构称作超二级结构，是介于二级和三级结构的中间状态。

蛋白质肽链的折叠是受能量变化所决定，能量的最低化，是促使构象稳定的驱动力。但由于折叠是动力学控制过程，所以能量最低化的折叠未必是所有最低能量构象中最低的一种。

8.1.4　肽模拟物

8.1.4.1　肽类药物

一些激素、细胞因子、单克隆抗体以及疫苗等多肽或蛋白质直接用作药物，是因为它们的结构复杂，难以简化成低分子量的化合物，因而大都经注射途径给药，例如，由 51 个氨基酸组成的胰岛素仍然是治疗糖尿病的主要手段，给药途径是注射。肽类化合物作为药物有许多不利因素，主要表现在：

(1) 口服生物利用度低。尤其是分子量较大、没有特异的转运蛋白辅助吸收的肽类难以经胃肠道吸收。

(2) 代谢不稳定性。肽类分子含有肽键，胃肠道、血浆和肝脏中有许多特异的和非特异的蛋白水解酶，可将肽或蛋白质代谢水解失活。

(3) 不易穿越血脑屏障。肽类化合物多为极性分子，除个别肽可经特异的转运蛋白进入脑内，多数难以穿越血脑屏障进入中枢神经系统。

(4) 缺乏特异性作用。肽类是柔性分子，在体内可采取多种构象体与不同的靶标发生相互作用，产生多种药理作用，这对疾病的治疗是不利的。

(5) 免疫原性。肽类药物作为外来物质，注射使用会产生过敏性反应。

这些缺点虽然可通过靶向用药或药剂学从剂型和给药途径解决部分问题，但仍受到很大的限制。

8.1.4.2 肽模拟物

为了克服上述的不利因素，在模拟肽结构的前提下经化学修饰或改造，形成了肽模拟物(peptidomimetics)。要求新的分子有这样的特征：①保持某种能够产生所希望的性质的构象，消除不希望有的性质，提高亲和性和选择性，以改善药效学性质；②改变肽的物理化学性质，例如溶解度和离解性；③调整药代动力学性质，提高吸收性和代谢稳定性；④消除免疫原性，降低毒性和不良反应。

肽模拟物可定义为模拟肽分子与受体或酶的相互作用、可激活或阻止生物活性的类肽、拟肽或非肽类化合物。活性肽一般为线型分子，在与相应的受体结合时，需采取特定的构象，所以设计肽模拟物的重要之点，是确定、利用并模拟肽与受体结合时的分子构象和药效团在空间的分布。

肽模拟物可直接开发成药物，或作为先导物演化成更简单的小分子药物。肽模拟物发现或产生的有两个途径：一是变换天然活性肽分子的结构，演化出新的有活性的非肽结构。由于大多数生物活性肽是柔性分子，因而设计的第一步是用构象限制的方法确定药效团特征及其在空间的特征，即活性构象体；另一是随机筛选或偶然发现的非肽化合物，这类化合物与活性肽对受体有相同或相似的结合位点，其药效团与活性肽的活性构象有相似的配置，从而可在此基础上进行分子设计。

8.2 构 象 限 制

8.2.1 原理

前已述及，当生物活性肽处于不同的环境或介质时，由于分子中存在柔性键，可采取多种低能量的构象，例如脑菲肽在溶液中形成构象群，各构象之间处于动态平衡[3]。在这样的条件下研究构象和活性的关系是没有意义的，也是不可能的，因为所测定的结果是多种构象的综合贡献。如果在柔性肽分子中引入构象限制因素，但仍保留基本结构，有可能提高药效强度和改善药代动力学性质以及代谢稳定性。

用构象限制的方法提高分子对受体的亲和力，是将处于平衡状态的多种构象体中的一种加以固定，突出了一种构象结构，减少其他构象的存在。在多种构象体中某一种优势构象可与受体结合，如果限制因素将这种构象固定，此时分子都是呈有利于同该受体结合的构象式存在，而不是柔性分子中只有一部分分子采取这种构象，因而增加了亲和力。在这个意义上，所限制的部位和状态对活性的影响是非常重要的。图 8-5 是柔性肽对受体特异性结合的示意图[4] 。

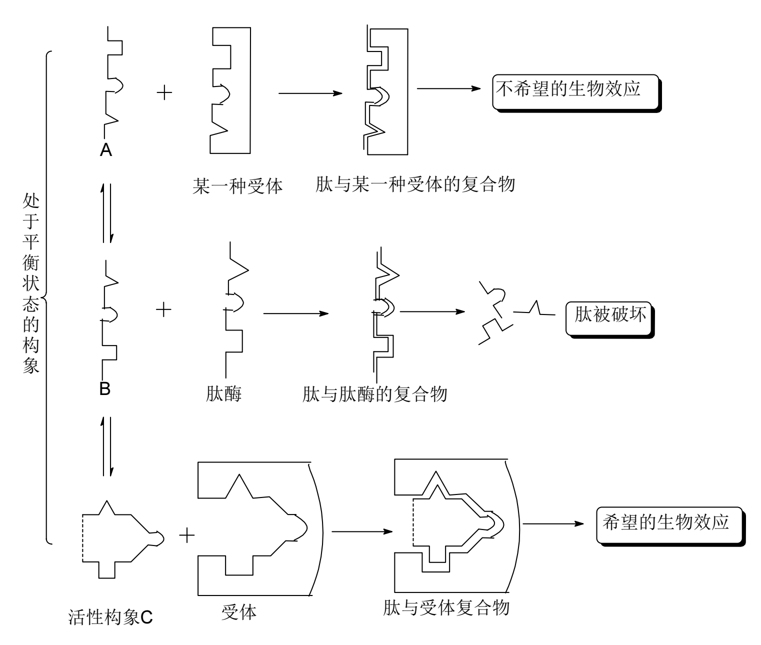


图 8-5 肽分子与受体相互作用的示意图

图 8-5 示意了柔性肽在溶液中存在多种构象(例如非活性构象 A 和 B 以及活性构象 C)，它们相互之间呈动态平衡。在活性构象体 C 中引入限制因素(虚线所示)则因 A 不复存在，不会发生与另一受体的结合，因而较少不良反应；也不会发生 B 与蛋白水解酶的反应，肽被分解而失活；只得到所希望的生物效应，因而提高了药效活性，并改善了药代行为。

在能量上，也由于构象限制使类似物采取了"正确的"活性构象，无需改变构象以适配受体的结合，故对熵效应是有利的。而柔性肽采取活性构象与受体结合，需要旋转单键以调整空间结构，需补偿能量。所以，构象限制体与受体结合时，整个系统的自由能变化比相应的柔性肽有利。

为了设计构象限制类似物(conformationally restricted analogue)，应确定识别受体所必需的氨基酸残基，以使结构类似于活性肽与受体结合时的构象。为此，通常是合成一些短肽，找出产生生物活性所必需的最小的肽链，同时在变换各个氨基酸时，考察各种结构参数如电性、疏水性和立体性对活性的影响。被肽分子识别受体活性部位的氨基酸残基数目一般为 4~8 个[5]。

活性部位的其余氨基酸残基虽然不是必需的药效团，但在空间上起固定药效团或其他辅助作用。肽分子中易被蛋白酶水解的肽键，经改换氨基酸或其模拟物，可提高对酶的稳定性，从而延长生物半衰期。

8.2.2 构象限制的设计方法

肽分子的构象限制有两种策略，即分子的局部限制和整体分子的构象限制。局部构象限制的方法可对某一氨基酸加以改换，或对侧链加以限制，或对肽骨架进行变换；整体分子的构象限制通常是制成环状肽。

8.2.2.1 单个氨基酸的模拟

用限制性氨基酸代替肽链中天然氨基酸，可影响 CO－NH、N_α－C_α或 C_α－CO 单键的旋转，也可使侧链的旋转受阻。限制性氨基酸可有多种方式，例如α-碳的氢原子被烷基化，α-氨基氮的烷基化，引入α, β-不饱和双键、引入或并合脂环和芳环，L-氨基酸-变成 D-构型，以及位置异构体如β-氨基酸等。这些变换可使肽的两面角 φ、ψ、χ、ω 发生变化，改变了分子形状和构象。

1. 氨基酸α碳甲基化

氨基酸的α氢被甲基替换，变成α-甲基氨基酸。甲基的引入所产生的位阻效应会限制 N_α-$C_\alpha(\varphi)$和 C_α-CO(ψ)键角的旋转，使肽链的构象发生较大的变化。例如甘氨酸的α碳被甲基化成丙氨酸，使甘氨酸原来的 70%构象空间受到限制。α-甲基丙氨酸(1)和α-甲基缬氨酸(2)与甘氨酸相比，构象限制了 90%[6]。α-甲基缬氨酸参入到血管紧张素[7]，P 物质[8]和缓激肽(bradykinin)[9]中代替其中一个氨基酸，可改变这些肽的生物活性。含有α-甲基氨基酸的多肽通常较少采取完全伸展型的构象，一般形成β-转折的构象。

H_3C NH_2 H_3C COOH

1

H_3C NH_2 H_3C COOH CH_3

2

2. α, α-二烷基化和亚烷基化

α, α-二烷基甘氨酸例如α, α-二乙基甘氨酸(3)、α, α-二丙基甘氨酸(4)和α, α-二苯基甘氨酸(5)的肽链呈伸展形，φ 和 ψ 角为 180°。两个烷基或芳基相同，消除了化合物的手性。

H_3C CH_3 H_2N COOH

3

H_3C CH_3 H_2N COOH

4

H_2N COOH

5

NH_2 COOH ( )$_n$

6

甘氨酸亚烷基化形成的α-氨基环烷酸(6)，n=0~4 分别为环丙基到环庚基氨基

酸，环状结构引起肽的β-转折[10]，这与上述的α, α-二烷基甘氨酸不同。例如脑菲肽的各个氨基酸残基分别被α-氨基环戊酸置换，镇痛活性强于脑菲肽。

3. N_α-C_α环合氨基酸

N_α-C_α环合是将α氨基与α碳经亚烷基相连，形成的环状氨基酸(7，n=0~4)，例如氮丙啶-、氮丁啶-、哌啶-2-羧酸等化合物，是脯氨酸的缩环或扩环类似物。这些环状氨基酸形成的肽链有两个特点：一是酰胺键与C_α的羧基可呈顺式或反式两种异构体；另一是φ角受到很大的限制，以致C_α-CO 的ψ角的转动也受到限制。胶原纤维蛋白中含有较多的脯氨酸残基，若脯氨酸的四氢吡咯环被氮丙啶代替，则降低了环与邻近非共价键合的基团在空间的相互作用，增加了肽链的柔性，从而降低了胶原蛋白的稳定性[11]。生长抑素(somatostatin)简化物六肽(8)中的脯氨酸残基被氮丙啶-或哌啶-2-羧酸替换，则提高活性。

7　　8

4. 苯丙氨酸侧链的限制

苯丙氨酸残基的构象限制物研究的最多，可以有多种方式，例如在β碳原子引入苯环(二苯基，9)、稠合苯并成萘基(10)、氨基与苯环的 2′位键合生成二氢吲哚基(11)、α碳与苯环的 2′位经亚甲基环合成二氢茚基(12)、氨基与苯环的 2′位经亚甲基连接成四氢异喹啉基(13)，以及经亚乙基连接成氮杂环庚基(14)等。

9　　10　　11

12　　13　　14

苯丙氨酸引入芳环或环合可引起活性变化，例如将血管紧张素 II 八肽中 Phe8 变成β, β-二苯基丙氨酸，对血管紧张素受体的激动活性增强近 2 倍，而二氢茚基和联苯基却为拮抗剂，提示限制性基团的大小和在空间的位置对受体结合以及产生的效应是不同的[12]。表 8-3 列出了这些化合物的结构和活性的关系。

表 8-3　含有不同限制性基团的血管紧张素 II 及活性

结构	COOH NH—	COOH NH—	COOH NH—	COOH NH—
活性/%	100	280(激动)	8.82(拮抗)	8.87(拮抗)

为提高环状四肽阿片激动剂对不同的受体亚型的选择性作用，将苯丙氨酸残基(Phe3，15)换成 2-氨基茚基-2-羧酸(Aic，16)，2-氨基四氢萘-2-羧酸(Atc，17)和四氢异喹啉-3-羧酸(Tic，18),化合物 16 提高了对μ受体的选择性作用；17 也提高了结合μ受体的能力，并且不同的构型对结合能的影响较小，18 作为构象限制体，对受体未呈现活性[13] 。

H-Tyr-*D*-Orn-Phe-Glu-NH_2　　H-Tyr-*D*-Orn-Aic-Glu-NH_2　　H-Tyr-*D*-Orn-Atc-Glu-NH_2　　H-Tyr-*D*-Orn-Tic-Glu-NH_2

Phe =　　Aic =　　Atc =　　Tic =

15　　16　　17　　18

5．脯氨酸残基的限制

3-苯基脯氨酸(19)兼有脯氨酸和苯丙氨酸的结构，可视作是这两个氨基酸的构象限制体：在脯氨酸的 3 位加入位阻较大的苯基；在苯丙氨酸的侧链β位的烷基与氮原子环合成四氢吡咯烷基[14]。化合物 20 是在脯氨酸的 3 位引入正丙基，也是去甲亮氨酸与脯氨酸融合的构象限制体。

19　　20

血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme，ACE)和中性内切酶(neutral endopiptidase，NEP) 都是与细胞膜结合的含锌蛋白水解酶，参与具有扩张血管作用的缓激肽的代谢反应，调节血压和体液的体积。ACE 是二肽羧端基酶，NEP 是使前房排钠因子(ANF)失活的水解酶，抑制 NEP 可利尿排钠而不影响钾离子水平，所以同时抑制这两个酶可降低血压，治疗心肌梗死。化合物 21 的 N 端含有巯基苯丙酰基(相当于酪氨酸的氨基被巯基置换)，C 端含有 5-苯基脯氨酸的甘氨酸衍生物，对 ACE 和 NEP 抑制作用的 IC_{50} 分别为 0.7 nmol/L 和 1.6 nmol/L，由于 21

为非肽分子，体内有良好的药代动力学性质，小鼠灌胃 2.6×10^{-5} mol/kg 可完全抑制这两种酶活性达 4 h 以上，并且在 12 h 后仍有活性[15]。

4-甲基脯氨酸(22)为脯氨酸的同系物，也可认为是亮氨酸的构象限制体[16]。

21　　22

6. *α*-碳原子参入环烷基

在*α*-碳上连接环烷可有不同方式：*α*, *α*-环烷基，也可以*α*-亚甲环烷基，在氨基和羧基形成较大的位阻。增免疫苏精肽(tuftsin，23)的各个氨基酸残基的*α*-碳连接取代的环丁烷基，成为取代的 1-氨基环丁酸，例如苏氨酸(24)、鸟氨酸(25)、赖氨酸(26)、缬氨酸(27)和精氨酸(28)用环丁基限制，都可在保留刺激产生白细胞介素 6(IL-6)的活性前提下，增加对人血清酶降解的耐受性，提高稳定性。

23　　24　　25

26　　27　　28

这些化合物用家兔的抗增免疫苏精肽抗体进行竞争性酶联免疫吸附试验(ELISA)，结果表明，与 23 之间无交叉竞争性作用，提示这些限制性模拟物的结合位点与增免疫苏精肽不同[17]。

化合物 29 是 ACE 和 NEP 双重抑制剂，对 ACE IC_{50} 为 62 nmol/L，对 NEP IC_{50} 为 28 nmol/L。将 29 的联苯基用*α*, *α*-环戊基替代，得到化合物 30，对 ACE 和 NEP 的抑制作用 IC_{50} 分别为 7.0 nmol/L 和 1.5 nmol/L。化合物 30 的巯基被乙酰化，羧

基成酯，酚基甲醚化，得到 31，增强了稳定性，活性更强[18]。

29　　30　　31

7. D-氨基酸的置换

肽链中 L-氨基酸用相应的 D-氨基酸置换，是常用的化学修饰方法。引入 D-氨基酸会使肽链的二级结构发生变化，某些内源性肽的 L-氨基酸被 D-构型置换有时产生较高的活性。例如脑菲肽的 2 位甘氨酸被 D-丙氨酸置换，增高了镇痛活性和代谢稳定性，而用 L-丙氨酸替代，却失去活性。

8. α,β-不饱和氨基酸

在α和β碳之间有双键的氨基酸，又称脱氢氨基酸，在微生物代谢产物的抗生素中有时发现，脱氢苯丙氨酸和脱氢亮氨酸残基由于双键的存在，有顺反异构体，并引起肽链发生β-转折。

8.2.2.2　二肽片段的模拟

肽链中两个相邻的氨基酸可用不同方式连接以限制构象，是经常使用的方法。选择被限制的氨基酸应当是与受体结合的重要药效团。在桥联的环上还可引入取代基或稠合其他环。二肽桥联的位置和方式如下：

1. 两个α碳的环化

肽链的酰胺键有部分双键性质，与酰胺相连的基团之间可呈反式(E)或顺式(Z)异构。肽类通常以反式构型存在，因为 E 比 Z 构型的能量低 2 kcal/mol。为了使两个α个碳原子形成环状结构，要以顺式构象相连，虽然在能量上是不利的，但这种环状的内酰胺模仿了肽链的β转折，往往产生有利的结合(图 8-6)[19]。

图 8-6　两个相邻氨基酸的α碳之间形成环状限制物

化合物 32 是七肽中 Cys4 与 Cys5 的巯基以二硫键形成有八元环结构的肽模拟物[20]。肽链中若甘氨酸与苯丙氨酸相邻，可以形成苯并内酰胺，也成为限制性构象。例如化合物 33 是甘氨酸残基的α碳与 Phe 的苯环 2′位相连接的分子[21]。

32　　33

2. α-碳与氮原子的环化

两个相邻的氨基酸的第 i 个氨基酸的α碳与 i+1 残基的氮原子形成环，生成五元或六元内酰胺环，环的大小取决于加入原子的数目。该环合物没有改变肽酰胺键的构型(图 8-7)。

图 8-7　氨基酸的α碳与相邻的另一氨基酸氮形成环状限制物

内酰胺环还可以并合其他环或含有杂原子，例如化合物 34 含苯并内酰胺片段的化合物，是血管紧张素转化酶(ACE)的强效抑制剂[22]。

34

若第 i 个残基的氮与第 i+1 个残基的α碳原子形成的环，则环内包含有两个氮原子，成为哌嗪酮环，这时与内酰胺环相连的基团呈顺式构型[23]，如图 8-8 所示。

图 8-8　氮与α碳形成的哌嗪酮的环状限制物

3. 两个氮原子间的环化

两个相邻的氨基酸的氮原子，即第 i 个残基的氮原子与第 i+1 个残基氮用两个或两个以上的饱和碳相连接，形成的环合物也是哌嗪酮或同型物，但其连接的方式与上述不同，在合环时酰胺键仍呈反式构型(图 8-9)。例如神经激肽 2 (neurokinin 2)的选择性拮抗剂可用这种环合进行修饰[24]。

图 8-9　相邻氨基酸的两个氮原子键形成的哌嗪酮样环状限制物

8.2.2.3　肽骨架的局部变换

本节讨论肽骨架的局部变换，是改变活性肽的部分肽键，即对酰胺键-CONH-进行变换或修饰。常用的方法是对酰胺键的原子或基团作电子等排置换，或者改变酰胺的连接方向(逆向变换的酰胺键也是电子等排的替换)，由-CONH-变换成 -NHCO-，这种变换使氨基酸残基的结构发生了改变。

肽骨架的这种变化可引起肽链构型、构象或拓扑学的改变，并且在电性分布、疏水-亲水的分配性、分子的偶极矩、氢键的形成能力等都会发生改变。变换的主要目的是提高肽对蛋白水解酶的耐受性。由于活性肽容易被血浆或细胞内肽酶水解，改变了肽键本质的模拟肽，其生物半衰期和药代动力学性质会发生有利的变化。但也可能影响活性强度的变化甚至使作用反转。

1. 肽键的电子等排变换

1) 酰胺键还原成亚甲胺基

酰氨键的羰基还原成亚甲胺基，结构和性质发生多种变化：酰胺键失去了部分双键性，原来近于 180°的 ω 角变成可自由旋转的 C-N 单键；胺基的对孤电子对不能离域化，碱性增强，在生理 pH 条件下可被质子化；亚甲基无羰基氧，不是氢键的接受体。

这种变换得到的伪肽对活性会有很大的影响，可能由激动剂变成拮抗剂，或增加了激动剂的活性。例如脑菲肽部分酰胺键变成还原型伪肽分子[25]，增加了碱性和柔性。为了降低柔性，可引入基团加以限制。例如可分别对碳或氮原子进行烷基化或甲酰化。神经激肽的亚甲烷胺基模拟物的活性高于亚甲胺基类似物和神经激肽本身[26]。

2) 酰胺键变成氧代亚乙基

肽链中的酰胺基被氧代亚乙基替换，即 NH 变换成 CH_2，构象发生较大的改变，因为在羰基碳和亚甲基碳之间没有双键性质，而且失去了氢键给体的能力，对生物活性会有较大的影响。

例如血管紧张素转化酶抑制剂，当苯丙氨酸与甘氨酸残基间酰胺键(35)替换成氧代亚乙基(36)后，抑制活性增加了 100 倍[27]。

Bz-Phe-Gly-Pro-OH ⟶ Bz-Phe-ψ[$COCH_2$]Gly-Pro-OH

35　　　　　　　　　　36

化合物 36 中 ψ [$COCH_2$]代表连接 Bz-Phe 与 Gly 的片段是-$COCH_2$-。当亚甲基的一个或两个氢原子被氟原子替代，往往增加生物活性。尤其是在设计丝氨酸蛋白水解酶抑制剂时，氟代或二氟代模拟物可提高抑制作用，其原因是羰基易形成水合物，成为过渡态类似物。

3) 二亚甲基的替换

酰胺键被亚乙基-CH_2CH_2-替换对肽链的性质影响很大，主要是连接键变成非极性键，氢键的给体和接受体都不能形成，而且增加了分子的柔性。

这种替换有时产生有利的结果，例如，Met-脑菲肽的 Gly-Gly 酰氨键换成 -CH_2CH_2-时，活性高于 Met-脑菲肽。但在其他位置变换则活性下降[28]。活性次序如下：

Tyr-Glyψ[CH_2CH_2]Gly-Phe-Met-OH > Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH >
Tyrψ[CH_2CH_2]-Gly-Gly-Phe-Met-OH

4) 反式乙烯键的替换

多肽分子中的肽键通常采取能量低的反式构型，以避让顺式构型的位阻效应。反式乙烯基模拟了酰胺键的构型、键长和键角；不同之处是乙烯基的构型完全固定，而酰胺键仍有部分的柔性；乙烯键不能形成分子内或分子间氢键，而且疏水性强于酰胺键，分配性变化较大。

用乙烯键替换酰胺键是设计肽模拟物的一种方法，例如，肾素抑制剂用乙烯键替换可得到较好的结果[29]。用氟代乙烯基作为酰胺键的电子等排体比乙烯基更有优点，氟原子的负电性模拟酰胺键的氧原子，因而物理化学性质乃至生物活性

均更相似于酰胺键。

例如 P 物质(十二肽)的 Phe9-Gly10 酰胺键用氟乙烯基替换，活性基本不变。核磁共振研究表明，两者的化学位移和偶合常数都非常相似。

(5) 1,5-二取代四唑环的替换

用含氮杂环模拟酰胺键是肽模拟物和骨架变化的一种方法，用四唑基固定肽链中酰胺的碳和氮原子，使构型成为顺式结构。

化合物 35 的 Phe-Ala 的酰氨键用四唑基替换，改变了原来的分子形状[30]。

35

(6) 其他

其他用于替换酰胺片段的桥连键有酯键、醚键、硫代酰胺键和硫醚键等。表 8-4 以 *N*-甲基乙酰胺为模型化合物进行等排变换的化合物特征。表中所列的距离是指两个甲基间的长度(Å)，α 是指 *N*-甲基乙酰胺的 CH_3-CO-NH 键角或其他化合物相应的键角；β 为 CO-NH-CH 或相应基团的键角；*V* 表示分子的体积。

表 8-4　酰胺及其电子等排体的结构参数

化合物	距离/Å	α/(°)	β/(°)	V/Å^3
H_3C-CO-NH-CH_3	3.8	119	120	69.3
H_3C-NH-CO-CH_3	3.8	119	120	69.3

续表

化合物	距离/Å	α/(°)	β/(°)	V/Å^3
$CH_3CH_2OCH_3$	3.7	107	113	67.0
$CH_3C(O)OCH_3$	3.7	116	113	65.8
$CH_3CH_2NHCH_3$	3.8	111	115	71.6
$CH_3C(O)CH_2CH_3$	3.9	118	110	75.6
trans-$CH_3CH{=}CHCH_3$	3.9	122	122	68.2
cis-$CH_3CH{=}CHCH_3$	3.0	125	236	68.5
$CH_3CH_2CH_2CH_3$	3.9	111	112	76.0
$CH_3CH(OH)CH_2CH_3$	4.0	111	113	83.3
$CH_3CH_2SCH_3$	4.2	110	98	76.2
$CH_3C(S)NHCH_3$	3.8	115	116	82.0
$CH_3C(O)N(CH_3)_2$	3.9	119	119	85.5

2. 肽键的反向变换

肽键的反向变换是将肽链由 N 端到 C 端连接的一个或多个酰胺键-CONH-变换成相反方向，成为胺甲酰基-HNCO-，这种反向酰胺键也是电子等排变换。反向连接后成为非天然的肽键，与蛋白酶活性部位的结构缺乏适配性，因而不能被蛋白酶识别和结合，增加了对酶水解的耐受性。反向酰胺仍具有平面性，呈反式构型，所以保持了原酰胺键的几何构型[31]。

由于肽键的反向结合，导致肽链中出现异常的组建单元。分子中若只含一个反向肽键，只涉及两个氨基酸残基的结构变换：在 N 侧为偕二胺(gAA)的结构，在 C 侧则为丙二酸(mAA)结构。如果连续两个反向肽键，则 N 侧为 gAA，C 侧为 mAA，中间

的氨基酸为反向的氨基酸(rAA)，即与肽链中其他氨基酸的配置方向相反(图 8-10)。

(a)

丙二酸
偕二胺
(b)

偕二胺
丙二酸
反向氨基酸
(c)

图 8-10 (a) 正常的肽链连接；(b) 含有一个反向肽键；(c) 含有两个反向肽键

胃泌素(gastrin，36)为四肽，其含有两个反向肽键的类似物(37)是强效拮抗剂，此时 N 侧的异亮氨酸残基变换成异戊二胺，中间的天冬氨酸残基由正向变成反向，C 侧的苯丙酰胺变换成苄基丙二酰胺。

36 37

肽模拟物反向操作还常常变换氨基酸的构型，由 L-变成 D-构型，生成的肽模拟物称为反向-翻转异构体(retro-inverso isomer)。所有氨基酸若都变换构型和肽键方向，除含有脯氨酸残基外，仍然保持原来侧链的拓扑结构，肽的构象也未限制，但不再会是蛋白酶的底物。反向-翻转型模拟物若不是环状肽时，会出现电荷互补性问题。因为它与天然肽相比，末端相对应的电荷是相反的，因而不易与受体结合。解决的方法是在末端引入“假端基”，或只对肽链的中间局部做反向-翻转修饰，保持肽链两端的结构不变。

8.2.2.4 肽二级结构的分子模拟

大多数活性肽都有确定的二级结构，这对生物活性是非常重要的。然而二级结构又具有柔性和可变动性，所以研究肽模拟物以固定二级结构，不仅可阐明活性肽的结构与功能的关系，也是药物分子设计的重要手段[32]。

模拟肽链的二级结构常常使用所谓的组建单元，组建单元分子中有两个或两个以上的连接位点，参入到肽链中，赋予分子以特定的二级结构的分子走向，这

种构象模拟物应尽可能与原肽的构象相似。在化学合成上，组建单元应容易引入所需的基团，以及加入或去掉保护基等。

模拟肽的二级结构最重要的是β转折的模拟物。前已述及，β-转折的形成涉及了四个氨基酸残基($i \rightarrow i+3$)，它的存在改变了肽链行进方向。β-转折在肽链中多呈暴露状态，是分子识别和结合的重要部位。下面列举的化合物可作为β-转折的模板，将氨基酸残基连接在适宜的功能基(特别是氨基和羧基)上。图 8-11 为常见的β-转折模拟物的结构。

图 8-11　常见的β-转折模拟物的结构

肽链的γ-转折是由于第 i 个残基的羰基与第 i+2 残基的氨基形成分子内氢键而形成的(图 8-12(a))，理想的γ-转折的两面角为γ-转折 ψ_i=120°，φ_{i+1}=80°，ψ_{i+1}=−65°，φ_{i+2} =−120°。图 8-12(b)和图 8-12(c)为γ-转折的模拟物[33]。

(a)　(b)　(c)

图 8-12　γ-转折的结构(a)及其模拟结构(b)和(c)

8.2.3　整体分子构象的限制

对活性肽分子构象作整体性限制(global restriction)经常用环合操作改变线型肽的柔性结构。环合的结果降低了环内的各个氨基酸残基的旋转自由度，从而稳定了特定的二级结构。通常环合的位置是不参与同受体识别结合的氨基酸侧链或骨架，例如不干预β-转折或特定的氨基酸。当环合后的构象类似于活性肽的活性构象时，该模拟物会提高选择性或活性强度，这种定向设计应以了解配体-受体或底物-酶的结合部位与特征为前提。在不知受体结构或不清楚结合部位的情况下，构效关系的研究是“探索”结合部位和设计模拟物的常用方法。设计环化模拟肽一般以 11~18 元环为宜。

脑啡肽(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met/Leu-OH)的环状模拟物的研究对阐明脑啡肽的活性构象和寻找强镇痛药物起了重要作用。X 射线晶体学研究表明，脑啡肽有两种不同的构象：一种是在 Tyr1 与 Phe4 之间形成两个反平行的氢键，是稳定的β转折结构。另一种是完全伸展的构象。波谱学方法和计算化学表明，脑啡肽同时存在数种呈平衡状态的构象。

脑啡肽的环合操作可有四种方式：末端氨基与末端羧基形成内酰胺；末端氨基与侧链环合；末端羧基与侧链环合；一个侧链与另一侧链环合。由于氨基末端是镇痛作用必需的基团，在环合时应保持该游离氨基，故只用后两种环合方式。

化合物 38 为环状五肽，Tyr-cyclo[D-A_2bu-Gly-Phe-Leu]，式中 D-A_2bu 代表 D-二氨基丁酸，它与亮氨酸形成内酰胺，为 14 元环，对μ受体的结合力强于脑啡肽，但对δ受体的亲和力却低于脑啡肽。其他的非环状 2 位残基用 D 构型氨基酸形成的五肽，对μ和δ受体的结合能力没有区别，说明环合的脑啡肽可提高对μ受体的选择性[34]。

另一种环状脑啡肽 39，Tyr-cyclo[D-Cys/Pen-Gly-Phe-Cys/Pen]，式中 Pen 代表β,β-二甲基半胱氨酸，是 2 位与 5 位的巯基经二硫键形成的 14 元环。39 与 38 连接的环状肽相反，失去了识别μ受体的能力[35]。

化合物 40 结构为 Tyr-cyclo[D-Lys-Gly-Phe-Glu]-NH_2，是 2 位的侧链氨基与 5 位侧链羧基形成的 18 元内酰胺环，对μ和δ受体均有亲和力[36]。

38　　39　　40

这三个化合物有不同键合方式，环的大小也不同，导致环状肽的构象不同，所以对阿片受体亚型的识别与结合能力也不同。

8.3　肽模拟物举例

一些有机小分子药物很早就应用于临床，后来证明它们是活性肽的模拟物，许多非肽类化合物是活性肽的受体激动剂或拮抗剂，大都由随机筛选或偶然发现的。虽然这些模拟物与受体作用的分子本质或它们如何模拟了原配体分子尚不清楚，但是通过深入研究构效关系，逐渐认识到这些非肽类模拟物具有与活性肽相同的药效团特征，其中著名的实例是阿片类化合物。

8.3.1　阿片类化合物

以吗啡为代表的天然或合成的阿片类镇痛药物，研究与应用已有二百年的历史。吗啡及其简化物或类似物的研制，不仅增添了许多新的镇痛药，具有强镇痛作用但较少成瘾性和引起呼吸抑制及便秘等毒副作用，而且也促进了各种阿片受体的发现。阿片受体的发现又证明了体内有内源性配体——脑啡肽(enkephalin)、内啡肽(endorphin)和强啡肽(dynorphin)的存在，这三种肽都有很强的镇痛作用。

阿片类生物碱作用于阿片受体，已知受体有μ、κ和δ三种亚型。脑啡肽是μ受体激动剂，为十三肽(41)，强啡肽是κ受体激动剂。研究表明，这些肽的 N 端有共同的四肽片段：Tyr-Gly-Gly-Phe，负责对受体的分子识别，Tyr1 是受体识别的重要部分，经过两个甘氨酸残基的间隔，自 Phe4 开始是选择性结合片段，体现了对受体的选择性结合，称作定位片段(address)，κ受体的定位片段是 Phe-Leu-Arg-Aeg-Ile-OCH_3，δ受体的定位片段为 Phe-Leu-OH。根据上述模式可解释阿片受体的非肽类配体的结构特征。图 8-13 是脑啡肽与受体的识别基、间隔基和定位基的示意图。

Tyr—Gly—Gly—Phe—Leu—Arg—Arg—Ile—Arg—Pro-Lys—Leu—Lys

41

识别基　间隔基　定位基

图 8-13　脑啡肽与受体的识别基、间隔基和定位基的示意图

吗啡及其衍生物的药效团特征是羟基苯丙胺片段，相当于脑菲肽的识别基酪氨酸残基。例如羟吗啡酮(oxymorphone，42)和纳洛酮(naloxone，43)都含有上述药效团，是阿片受体的激动剂。羟吗啡酮的 *N*-甲基被 *N*-烯丙基替换，则由激动剂变成拮抗剂；naltrindole(44)是δ受体的激动剂，丁丙诺啡(buprenorphine，45)也含有识别基团，是μ受体的部分激动剂，有较低的药物依赖性。这几个药物的结构变换部分体现了与不同受体亚型结合的要求。

42　43　44　45

酚羟基并非是必需的药效特征，苯并二氮䓬药物替氟朵(tifluadom，46)也是阿片κ受体的激动剂，但没有酚羟基，实验表明对动物有很强的镇痛作用，而无呼吸抑制和依赖性等毒性。

46

8.3.2　生长抑素的模拟物

生长抑素(somatostatin，47) 是环十四肽，具有抑制甲状腺生长激素释放的作用，是中枢的神经递质，调节大脑的功能。在肽链的 Phe7-Trp8-Lys9(即 FWK-motif)处为β-转折，是受体识别的重要部位。环肽 48 含有模拟β-转折的片段，对受体具有亲和力，48 称作善得定(sandostatin 或 octreotide，48)，临床治疗胃肠道肿瘤引起的消化性疾病，1988 年上市。用含有二氢茚和哌啶基片段代替苯丙氨酸保留色氨酸和赖氨酸残基的肽模拟物,得到含螺环哌啶的化合物 49，含氨基哌啶的化合物 50，为生长抑素的受体激动剂；而将哌啶环换成哌嗪并苯磺酰化得到 51，却为受体拮抗剂[37]。以 3-去氧-β-葡萄糖作为模拟β-转折的骨架，于骨架上连接苄基、3-吲哚乙基和氨丁基相当于 Phe7、Trp8 和 Lys9 的侧链，得到的化合物 52，对甲状腺的生长抑素受体的作用 IC_{50} = 1.3 μmol/L，在低剂量是为拮抗剂，高剂量为激动

剂(3.0 μmol/L)。此外，它对 P 物质受体的亲和力(IC_{50} = 0.18 μmol/L)和β_2-受体亲和力(IC_{50} = 3 μmol/L)都很强，表明其选择性作用较低。

FWK结构域，为β-转折

Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-**Phe-Trp-Lys**-Thr-Phe-The-Ser-Cys

S——S

47

48　　　49

50　　　51　　　52

8.3.3　人免疫缺陷病毒蛋白酶抑制剂

人免疫缺陷病毒(HIV-I)蛋白酶属于天冬氨酸酶，其作用是将人免疫缺陷病毒的 gag 蛋白和 gag-pol 蛋白处理成有功能性的蛋白，后者在病毒的生长起重要作用。HIV 蛋白酶抑制剂可阻止蛋白成熟化，因而失去了传染性。图 8-14 是底物与 HIV 蛋白酶的 X 射线晶体结构的模式图，在复合物中存在有结构水分子，该水分子在酶与底物或与抑制剂结合中起重要作用。水分子与酶的 Ile50 和 Ile50′形成氢键，并与该过渡态类似物的两个羰基也形成氢键。

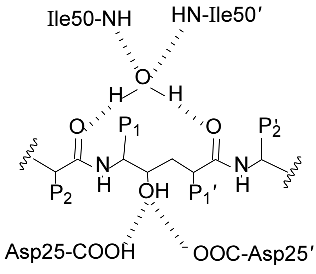


图 8-14　底物与 HIV 蛋白酶的 X 射线晶体结构的示意图

该结构水在催化和抑制过程起重要作用，而且是 HIV 逆转录病毒的天冬氨酸酶所特有的，哺乳动物的天冬氨酸酶催化无结构水参与，这为设计病毒的特异性抑制剂提供了可靠的依据。基于以上结构特征，设计了以环脲为骨架的非肽类抑制剂，环脲的氧原子履行了结构水的作用，两个羟基分别与天冬氨酸残基形成氢键，如图 8-15 所示。

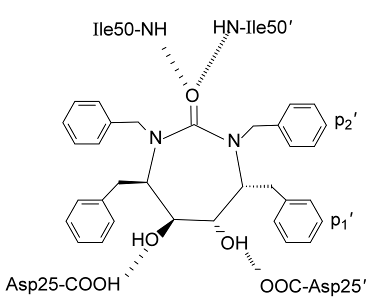


图 8-15　环脲类抑制剂与 HIV 蛋白酶结合示意图

环脲模拟物是利用“预组建原理”(preorganization principle)的一个成功的实例，该原理认为，分子之间的相互作用中，主体分子与客体分子的结合得越密切，而且在结合之前的溶剂化程度越低，形成的复合物越稳定。将上述的结构水中的氧原子参入到抑制剂分子中，增加了对病毒蛋白酶作用的特异性，并由于参与氢键作用的氧原子“固化”到抑制剂中，而不是“自由的”水分子，因而熵效应是有利的，熵变大约为 2 kcal/mol[79]，增加了稳定性。

化合物 53 和 54 的结构和活性的关系进一步说明了预组建的作用。环脲的合理的构象有利于同酶结合，而开环化合物 54 可能以伸展型构象存在，若形成类似于环脲的结构会有很高的构象能，其构象能超过 4.8 kcal/mol[38]。

53

K_i = 2.5 nmol/L

$\Delta\Delta G$ = −4.8 kcal/mol

54

K_i = 6700 nmol/L

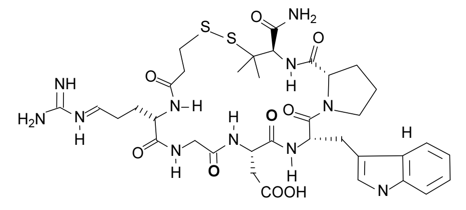
$\Delta\Delta G$ = 0 kcal/mol

8.3.4　RGD 的拮抗剂

RGD 是蛋白或多肽分子含有的 Arg-Gly-Asp 片段，是整合素(integrin)受体家

族识别和结合配体的重要氨基酸序列[39]，其功能是介导血小板聚集等生理过程。通过模拟 RGD 结构域，特别是小分子化合物模拟 RGD 片段，产生对整合素的拮抗作用，可为设计抗血栓药物的一个环节。糖蛋白 IIb/IIIa 受体就是其中一种，它与纤维蛋白原结合是完成血小板聚集的重要步骤。

蛇毒和水蛭素为多肽分子，可防止血小板聚集，分子中也含有的 RGD 片段，是阻止 IIb/IIIa 受体活化从而抑制血小板聚集的药效团。Fisher 等用 ^{1}H NMR 研究了对 IIb/IIIa 有强效抑制作用的环庚肽 55，证明甘氨酸-天冬氨酸的构象为β转折，如图 8-16 所示。Arg-Gly-Asp 片段由于被 Arg 与 Trp 氢键的"束缚"形成β转折。作为药效团的精氨酸胍基和天冬氨酸的羧基，被这三个氨基酸骨架支撑，在空间构成特定的配置，羧基碳原子与胍基氮原子的距离为 15~16Å，是设计 IIb/IIIa 受体拮抗剂的重要结构特征[40]。



55(粗体表明 RGD 片段)

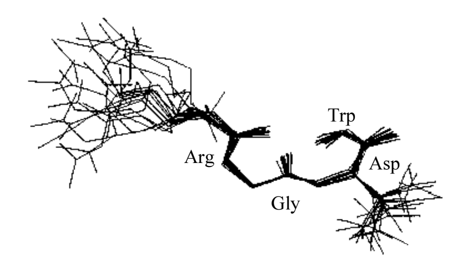


图 8-16　核磁共振研究 RGD 的构象为β转折

用苯脒替代胍基，将非肽类结构作为连接羧基端的支撑骨架，并满足脒基与羧基的距离和其他结构要求，合成了具有阻断糖蛋白 IIb/IIIa 受体活性的化合物，例如拉米非班(lamifiban，56) 是以苯丙氨酸连接 p-脒基苯甲酸和哌啶氧乙酸的化合物。用丙氨酸连接类似的片段，而且为避免脒基与羧基之间形成内盐不能口服吸收，将脒基氧化成羟基脒，羧基成酯，称作西巴非班(sibrafiban，57)，该化合物本身没有活性，口服吸收后，在体内羟基脒基被还原成脒基，酯基水解成酸而活化，所以西巴非班是前药[41]。

56　　57

Keenan 等以苯二氮䓬为骨架,支撑起脒基和羧基的正常距离，得到化合物 58，对 IIb/IIIa 受体具有强效阻断作用，K_i=2.8 nmol/L[42]。

58

8.3.5　白三烯 D_4(LTD_4)受体拮抗剂

白三烯 D_4 是含有甘氨酰半胱氨酸肽链、经硫醚键连接的羟基二十碳四烯酸(59)，是发生炎症和过敏反应的重要介质，其受体阻断剂可用来治疗哮喘病。早期发现的 LTD_4 拮抗剂是 FPL-55712(60)，为羟基苯乙酮经适当的间隔基与酸性基团相连的结构。该羟基苯乙酮模拟了 LTD_4 的疏水片段；酸性基团相当于甘氨酰半胱氨酸二肽部分。它的拮抗作用较弱，与受体的亲和力低于底物 $LTD_4$3~4 个数量级。

59　　60

进而根据 LTD_4 的结构，用苯环模拟四烯片段；硫代二肽用羧酸酯代替，保留 C_1 的羧基，设计了普仑司特[43] (pranlukast，61)和硫鲁司特[44] (sulukast，62)，这两个拮抗剂保持了 LTD_4 中硫醚与羟基的相同构型。

61　　62

另一类拮抗剂是含喹啉环的维鲁司特[45](verlukast，63)和孟鲁司特[46](montelukast，64)，它们对 LTD_4 受体的拮抗活性很高，IC_{50} 分别为 3.1 nmol/L 和 0.5 nmol/L。这些上市的药物用于临床治疗哮喘、过敏病和慢性肺阻塞病。

63　　64

8.3.6　促甲状腺释放激素的构象限制

促甲状腺释放激素(thyrotropin-releasing hormone，TRH，65) 的作用是促进血浆中游离碘向甲状腺组织的摄入，以该激素作为模板，替换氨基酸或环合操作设计新的激动剂或拮抗剂。TRH 分子中含有 6 个单键，对某些单键加以限制，并将难以合成的咪唑基用苄基替换(即用 Phe2 替换 His2)，得到三肽化合物 66，对受体亲和力和作用强度均明显低于 TRH，但在高浓度下可完全将 TRH 从受体上置换下来，说明是竞争性结合。故以[Phe]2-TRH 作为模板，将焦谷氨酰胺和苯丙氨酸残基的两个氢原子用碳原子或单键相连，构成螺内酰胺，并将脯氨酸与苯丙氨酸的亚甲基环合，设计构象限制性化合物 67，该化合物的活性与 [Phe]2-TRH 的相当，说明环合桥联未明显影响活性。表 8-5 列出了这三个化合物对受体的作用[47]。

65　　66　　67

表 8-5　TRH 及其类似物对受体结合作用的比较

化合物	K_i/(nmol/L)	EC_{50}/(nmol/L)
65	10(K_m)	0.68
66	1500	110
67	4400	290

8.3.7　细胞间黏附分子受体拮抗剂

细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1，ICAM-1)与淋巴细胞功能相关抗原 1(lymphocyte function-associated antigen 1，LFA-1)是两种蛋白，两者之间的结合能力的变化，调控并介导跨膜双向信号传递，这种蛋白-蛋白相互作用对淋巴细胞渗出、激活、黏附和免疫监视等起重要作用，所以，干扰 ICAM-1 与 LFA-1 相互作用可调节免疫功能。研究 ICAM-1 的结构与功能表明，与 LFA-1 结合的重要基团是 Glu34、Lys39、Met64、Tyr66 和 Gln73，虽然这些氨基酸残基未直接连接，但在空间上是相近的，构成了蛋白-蛋白相互作用的热点(hot spots)，模拟这些热点的小分子有可能与 LEF-1 结合，具有抗炎免疫调节的活性。Gadek 等基于这些基团特征，从环肽开始经优化设计，得到与 ICAM-1 较高结合作用的化合物 68，进而使其小分子化，得到化合物 69，其阻止与 LFA-1 结合的 IC_{50}=1.4 μmol/L，再以 69 为模板，合成集中库[48]，得到化合物 70，其阻止与 ICAM-1 结合的 IC_{50}=1.4 nmol/L，抑制混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction，MLR)强度高于环孢素 A。70 分子优势构象下的游离羧基、噻吩环和 2,6-二氯苯基在空间的位置分别与 Glu34、Met64 和 Tyr66 相重合，苯酚环处于 Gln73 旁边[49]。

68　　　　69

相应于Met64

相应于Gln73

集中库

相应于Tyr66

相应于Glu34

70

参 考 文 献

[1] Nazaki Y, Tanford C. The solubility of amino acids and two glycine peptides in aqueous ethanol and dioxane solutions. J Biol Chem, 1971, 246: 2211-2117

[2] Rose G D, Gierasch L M, Smith J A. Turns in peptides and proteins. Adv Protein Chem, 1985, 37: 1-109

[3] Betins J, Nikiforovich G V, Chipens G. Statistical weights of Leu-enkephalin conformers in aqueous solution. J Mol Structure: THEOCHEM, 1986,137: 129-132

[4] Freidinger R M. Nonpeptidic ligands for peptide and protein receptors. Curr Opin Chem Biol, 1999, 3: 395-406

[5] Freidinger R M. Design and synthesis of novel bioactive peptides and peptidomimetics. J Med Chem, 2003, 46: 5553-5566

[6] Degrado W F. Design of peptides and proteins. Adv Protein Chem, 1988, 39: 51-124

[7] Samanen J, Cash T, Naringdray D, et al. An investigation of angiotensin II agonist and antagonist analogues with 5,5-dimethylthiazolidine-4-carboxylic acid and other constrained amino acids. J Med Chem, 1991, 34: 3036-3043

[8] Tallon M, Ron D, Halle D, et al. Synthesis, biological activity, and conformational analysis of [pGlu6, N-MePhe8,Aib9] substance P (6-11): a selective agonist for the NK-3 receptor. Biopolymers, 1993, 33: 915-926

[9] London R E, Stewart J M, John R C. Probing the role of proline in peptide hormones. NMR studies of bradykinin and related peptides. Biochem Pharmacol, 1990, 40: 41-48

[10] Valle G, Crisma M, Toniolo C, et al. Crystallographic characterization of conformation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid residue (Ac3c) in simple derivatives and peptides. Int J Peptide Protein Res, 1989, 34: 56-65

[11] Zagari A, Nemethy G, Scheraga H A, et al. The effect of the L-azetidine-2-carboxylic acid residue on protein conformation. I. Conformations of the residue and of dipeptides. Biopolymers, 1990, 30: 951-959

[12] Hsieh K H, LaHann T R, Speth R C. Topographic probes of angiotensin and receptor: potent angiotensin II agonist containing diphenylalanine and long-acting antagonists containing biphenylalanine and 2-indan amino acid in position 8. J Med Chem, 1989, 32: 898-903

[13] Schiller P W, Grazyna Weltrowska G, Dung N T M, et al. Conformational restriction of the

phenylalanine residue in a cyclic opioid peptide analog: effects on receptor selectivity and stereospecificity. J Med Chem, 1991, 34: 3125-3132

[14] Chung J Y L, Wasicak J T, Arnold W A, et al. Conformationally constrained amino acids. Synthesis and optical resolution of 3-substituted proline derivatives. J Org Chem, 1990, 55: 270-275

[15] Fournie-Zaluski M C, Coric P, Thery V, et al. Design of orally active dual inhibitors of neutral endopeptidase and angiotensin-converting enzyme with long duration of action. J Med Chem, 1996, 39: 2594-2608

[16] Soucy F, Wernic D, Beaulieu P. Preparation of 4-alkylprolines by intramolecular radical cyclization of chiral serine derivatives. J Chem Soc, Perkin Trans 1. 1991, 2885-2887

[17] Gershonov E, Granoth R, Tsehoval E, et al. 1-Aminocyclobutanecarboxylic acid derivatives as novel structural elements in bioactive peptides: Application to tuftsin Analogs. J Med Chem, 1996, 39: 4833-4843

[18] Fink C A, Carlson J E, McTaggart P A, et al. Mercaptoacyl dipeptides as orally active dual inhibitors of angiotensin-converting enzyme and neutral endopeptidase. J Med Chem, 1996, 39:3158-3168

[19] Bairaktari E, Mierke D F, Mammi S, et al. Observation of a cis amide isomer within a linear peptide. J Am Chem Soc, 1990, 112: 5383-5383

[20] Suumara D K, Prorok M, Lawrence D S. A molecular constraint that generates a cis peptide bond. J Am Chem Soc, 1991, 113: 706-707

[21] Flynn G A, Burkholder T P, Huber E W, et al. An acyliminium ion route to cis and trans “anti” Phe-Gly dipeptide mimetics. Bioorg Med Chem Lett, 1991, 1: 309-312

[22] Flynn G A, Giroux E L, Dage R C. An acyliminium ion cyclization route to a novel conformationally restricted dipeptide mimic: applications to angiotensin-converting enzyme inhibition. J Am Chem Soc, 1987, 109: 7914-7915

[23] DiMaio J, Belleau B. Synthesis of chiral piperazin-2-ones as model peptidomimetics. J Chem Soc, Perkin Trans. 1. 1989, 1687-1691

[24] Dounsh C T, Clark M L, Hawley D, et al. Reg Pept, 1988, 22: 58

[25] Schiller P W, Weltrowska G, Nguyen T M D, et al. TIPP[ψ]: a highly potent and stable pseudopeptide .delta. opioid receptor antagonist with extraordinary .delta. selectivity. J Med Chem, 1993, 36: 3182-3187

[26] Harbeson S L, Shatzer S A, Le T B, et al. A new class of high affinity ligands for the neurokinin A NK2 receptor: psi (CH2NR) reduced peptide bond analogues of neurokinin A4-10. J Med Chem, 1992, 35: 3949-3955

[27] Almquist R G, Chao W R, Ellis M E, et al. Synthesis and biological activity of a ketomethylene analogue of a tripeptide inhibitor of angiotensin converting enzyme. J Med Chem, 1980, 23: 1392-1398

[28] Kawasaki K, Maeda M. Amino acids and peptides. II. Modification of glycylglycine bond in methionine enkephalin. Biochem Biophys Res Commun, 1982, 106: 113-116

[29] Kaltenbronn J S, Hudspeth J P, Lunney E A, et al. Renin inhibitors containing isosteric

replacements of the amide bond connecting the P3 and P2 sites. J Med Chem, 1990, 33: 838-845

[30] Zabrocki J, Smith G D, Dunbar J B, et al. Conformational mimicry. 1. 1,5-Disubstituted tetrazole ring as a surrogate for the cis amide bond. J Am Chem Soc, 1988, 110: 5875-5880

[31] Pallai P V, Struthers R S, Goodman M, et al. Partial retro-inverse analogues of somatostatin: pairwise modifications at residues 7 and 8 and at residues 8 and 9. Biochemistry, 1985, 24: 1933-1941

[32] Currie B L, krstensky J L, Lin Z L, et al. Design and synthesis of bicyclic non-peptide β-bend mimetic of enkephalin. Tetrahedron, 1993, 43: 3489-3500

[33] Huffman W F, Callahan J F, Eggleston D S, et al.// Marshall G R. Peptides: Chemistry and Biology, Proceedings of 10th American Peptide Symposium. ESCOM, Leiden, 1988, pp.105-108

[34] Dimaino J, Nguyen T M D, Lemieux C, et al. Synthesis and pharmacological characterization in vitro of cyclic enkephalin analogues: effect of conformational constraints on opiate receptor selectivity. J Med Chem, 1982, 25: 1432-1438

[35] Schiller P W, Eggimann B, Dimaio J, et al. Cyclic enkephalin analogs containing a cystine bridge. Biochem Biophys Res Commun, 1981, 101: 337-343

[36] Schiller P W// Udenfriend S, Meinhofer J. The Peptides. Vol 6. Orlando: Academic Press, 1984, 219

[37] Hay B A, Cole B M, DiCapua F M, et al. Small molecule somatostatin receptor subtype 2 antaqgonists. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11: 2731-2734

[38] Lam P Y S, Ru Y, Jadhav P K, et al. Cyclic HIV protease inhibitors: synthesis, conformational analysis, P2/P2'structure-activity relationship, and molecular recognition of cyclic urea. J Med Chem, 1996, 39: 3514-3525

[39] Ruoslahti E, Pierschbacher M D. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. Sciences, 1987, 238: 491-497

[40] Alig L, Edenhofer A, Hadvary P, et al. Low molecular weight, non-peptide fibrinogen receptor antagonists. J Med Chem, 1992, 35: 4393-4407

[41] Alig L, Beresini M, Weller T, et al. Orally active fibrinogen receptor antagonists. 2. Amidoximes as prodrugs of amidines. J Med Chem, 1996, 39: 3139-3147

[42] Keenan R M, Callahan J F, Samanen J M, et al. Conformational preferences in a benzodiazepine series of potent nonpeptide fibrinogen receptor antagonists. J Med Chem, 1999, 42: 545-559

[43] Nakai H, Konno M, Kosuge S, et al. New potent antagonists of leukotrienes C4 and D4. 1. Synthesis and structure-activity relationships. J Med Chem, 1988, 31: 84-91

[44] Boot J R, Bond A, Gooderham R, et al. The pharmacological evaluation of LY170680, a novel leukotriene D4 and E4 antagonist in the guinea-pig. Br J Pharmacol, 1989, 98: 259-267

[45] Gauthier J Y, Jones T, Champion E, et al. Stereospecific synthesis, assignment of absolute configuration, and biological activity of the enantiomers of 3-[[[3-[2-(7-chloroquinolin-2-yl)-(E)-ethenyl]phenyl][[3-(dimethylamino)-3-oxopropyl]thio]methyl]thio]propionic acid, a potent and specific leukotriene D4 receptor antagonist. J Med Chem 1990, 33: 2841-2845

[46] Labelle M, Belley M, Gareau Y, et al. Discovery of MK-0476, a potent and orally active

leukotriene D4 receptor antagonist devoid of peroxisomal enzyme induction. Bioorg Med Chem Lett, 1995, 5: 283-288
[47] Rutledge L D, Perlman J H, Gershengorn M C, et al. Conformationally restriced TRH analogs: A probe for the pyroglutamate region. J Med Chem, 1996, 39: 1571-1574
[48] Burdick D J, Paris K, Weese K, et al. N-Benzoyl acids as LFA-1/ICAM-1inhibitors 1: amino acid structure-activity relationship. Bioorg Med Chem Lett, 2003, 13: 1015-1018
[49] Gadek T R, Berdick R S, McDowell M S, et al. Generation of an LFA antagonist by the transfer of the ICAM-1 immunoregulatory epitope to a small molecule. Science, 2002, 295: 1086-1096

第 9 章　手 性 药 物

9.1　引　　言

人体内环境是不对称的，这种不对称性尤其反映在分子水平上。构成机体的绝大多数物质(结构性的和功能性的)都是不对称分子，例如核酸、蛋白质和糖分子中均含有不对称因素。

机体对营养物质或其他必需的外源性物质的摄取大都是立体特异性的，例如人体只能吸收 L-氨基酸和 D-葡萄糖，而难以吸收其对映体；对非对称性的药物往往也表现选择性作用。这种特异性或选择性作用的本质是生物大分子与药物(营养物)的分子识别过程中立体因素所造成。

一个不对称分子当它不能与自己的镜像相重叠并且有使偏振光振动面旋转的性质时，称作手性分子，“手性”(chirality)用来表征有旋光性质的分子三维结构特征。含有手性特征的药物称作手性药物。在不对称的介质中，一对对映体药物经受的物理和化学影响与变化是不同的，它们被机体的吸收分布代谢和排泄(药代)，以及对靶标(target)或非靶标(off-target)的作用有很大的区别，因而对映体之间所呈现的药理和毒副作用有明显差异。

手性化合物的产生是由于分子中含有手性中心(chiral center)、手性轴(chiral axis)或手性面(chiral plane)所致。最常见的手性药物是含有手性中心或称手性原子，是由于碳原子或氮、硫和磷原子连接四个不相同的原子或基团所引起的，一个手性中心连接的原子或基团在空间的排列连接方式可以(而且只能)有两种，称之为绝对构型，用 R 和 S 表示基团的排列次序。

互为对映关系的两个立体异构体在对称的环境中，物理化学性质完全相同，例如熔点、沸点、溶解度、分配系数、pK_a 以及在孤立的真空系统中理论化学计算的各种参数等。但在非对称的环境中，例如在偏振光中，对映体对偏振光面旋转方向相反。在与受体蛋白结合的不对称环境中的结合能力是不同的，对映体与受体之间理论计算的亲和力也是不同的。

在生物系统中，对映体与转运蛋白、酶或受体相互作用时，由于蛋白质分子的不对称性，与对映体的分子识别和结合位点是不同的，因而对映体的药代动力学行为、药效学性质和不良反应有差异，导致临床治疗效果的区别。在这个意义上讲，一对对映体是两个不同的物质。有些药物使用的是消旋体，若其中一种无

益或无效，严格地讲，有 50%量可认为是杂质。所以，国际上和我国有关药品管理法规现已明确规定，对手性药物必须研究光学活性纯净的异构体的药代、药效和毒理学性质，择优进行临床研究和开发。只停留在对消旋体药物的研发水平，已不符合国际与国内药品法规的要求。

9.2　手性药物作用的立体选择性

9.2.1　Pfeiffer 规则和三点结合学说

Pfeiffer 基于分析对映异构体之间存在活性差异，归纳出经验性规律，即手性药物的有效剂量越低，对映体之间的药理作用的差别越大，这就是 Pfeiffer 规则 [1]。Lehmann 为了解释这一现象，提出了三点作用学说[2]，认为药物产生活性的分子基础是与受体在三维空间的相互作用，从分子识别到定位结合，是药物和受体分子之间的相互诱导、适配和契合过程，导致双方有若干个原子或基团形成互补性的结合。结合点越多，相互作用能量越强，活性越高。受体的结合部位一般是手性的不对称的环境，当产生生物活性要求受体有三个或更多的结合位点，它们在空间分布呈某种手性排布，对应的药物分子的基团应与之适配，这就要求药物分子有特定的构型。三点学说解释了手性药物作用的立体特异性。图 9-1 是药物-受体三点作用的示意图。

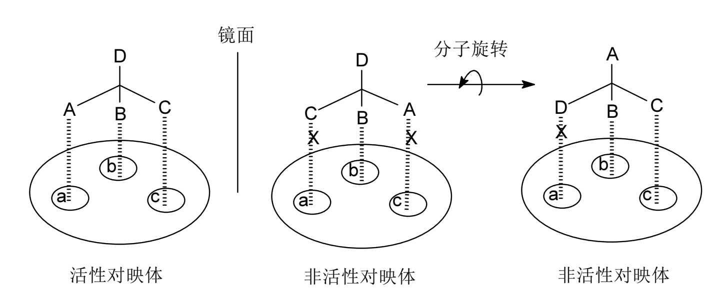


图 9-1　药物-受体三点作用的示意图

9.2.2　优劣对映体和亲和力分析

为了比较一对对映体的药理作用的差异，Lehmann 还提出了优映体(eutomer)、劣映体(distomer)和优劣比(eudismic ratio)等概念[3]。对映体中有较高药理活性或与受体有较强结合力的一个对映体称作优映体，较弱药理活性或低亲和力的对映体称作劣映体。优映体与劣映体活性之比值称作优劣比，是对映体的药物作用的立体特异性的量度，优劣比越大，立体特异性越高。优劣比值的对数称作优劣指数

(eudismic index，EI)，也是衡量对映体的立体特异性的量度。手性化合物的同系物的优劣指数与优映体活性的对数之间具有线性关系，作图得到的直线方程的斜率称作优劣亲和商(eudismic affinity quotients，EAQ)，EAQ 是正值，反映了与 Pfeiffer 规则的一致性。

对映体在离体和整体的实验活性不同，优劣比往往有较大的差异，这是因为用整体动物测定的活性包括了药代动力学和药效学的综合作用，对映体的吸收、代谢和与受体相互作用的差异是不相同的。表 9-1 列出了一些非甾体抗炎药物对映体的优劣比的体内外差异[4]。

表 9-1 非甾体抗炎药物对映体的优劣比的体内外差异

药物	结构式	优劣比	
		体外抗炎活性	体内抗炎活性
氟比洛芬(flubiprofen)		878	8
布洛芬(ibuprofen)		160	1.3
吲哚洛芬(indoprofen)		100	25
萘普生(naproxen)		70	21
非诺洛芬(fenoprofen)		35	1
卡洛芬(carprofen)		> 23	15

表中数据表明，体外活性最高的氟比洛芬，体内有中等强度的抗炎作用；体

外只有中等活性的吲哚洛芬，体内抗炎作用最强。

9.2.3 对映体与受体结合方式的差别

前已述及，三点结合学说用以解释对映异构体的活性区别，表现在有不同的结合方式。例如3-烷基苯并二氮䓬含有一个手性碳，对映体与GABA受体氯离子通道的结合能力不同。优劣体亲和力分析表明，3*S*体为优映体，并且随着烷基R体积的增大结合力减弱。3*S*优映体的结合构象为M型，3位取代基处于平展键；3*R*对映物为劣映体，结合构象不会呈M型，否则烷基需取直立方向(endo)。图9-2表示了优劣映体的3-位基团的立体性对受体亲和力的影响。3*S*烷基处于平展键，3*R*为直立键，提示受体腔穴有个"顶盖"(ceiling)，不易容纳处于直立键的烷基[5]。

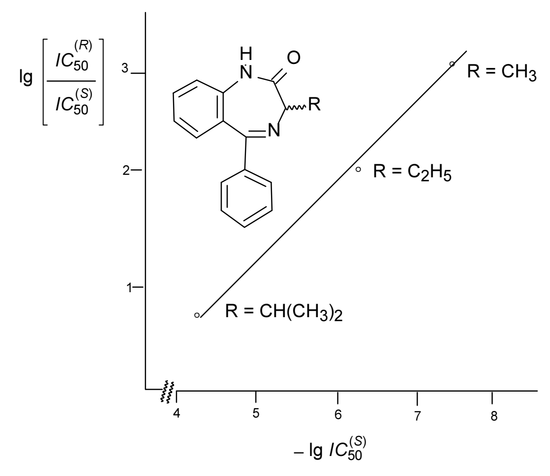


图9-2 3-烷基取代的苯并二氮䓬对映体对受体亲和力的影响

9.3 手性药物的药代动力学

机体对药物的处置，包括吸收、分布、代谢、排泄和与血浆蛋白的结合，本质上是机体的某些生物大分子对药物分子的处置，通过物理化学的弱相互作用或代谢过程中共价键生成或断裂，发生物理形态或化学的变化。生物大分子对对映体的识别、结合和处置是不相同的，造成药物的吸收速率、与血浆蛋白的结合程度、分布状态、与运载蛋白的结合特异性(摄入或外排) 、被药物代谢酶的生物转化样式和速率以及排泄的方式与速率等都有区别。

9.3.1　手性药物的吸收

大多数药物的吸收是通过被动扩散机制进入细胞内的，穿越细胞膜的速率与药物分子的大小、分配系数和 pK_a 相关，对映体的这些性质是相同的，因而经被动扩散吸收的速率和数量是相同的。然而，经主动转运机制吸收的药物则不同，主动转运是经与特异的转运蛋白结合而输送到细胞内的，在这个过程中，运载蛋白对一对对映体的分子识别和结合能力是不同的，所以吸收的速率和吸收量不同。例如甲氨蝶呤(methotrexate，MTX，1)是 *S*(L)构型，可经主动转运，在低浓度下胃肠道也会吸收，为优映体，而 *R*(D)构型 MTX 只能经被动扩散，在较高浓度下才被吸收[6]，为劣映体。造成上述的原因是 MTX 分子中含有的谷氨酸片段为天然 L-构型，能够被特异蛋白结合和转运，而 D-构型则不能被转运蛋白结合与运载。

1

制剂中的手性赋形剂可提高对某一种光学异构体的吸收，成为优映体。例如纤维素、环糊精和多糖等可与消旋药物中的一个对映体发生分子间相互作用，表现出一定的选择性，影响溶出度。例如抗心律失常药维拉帕米(verapamil，2)的一对对映体在用手性赋形剂制成的改性释放剂型中的溶出速率不同，其中 *R*-对映体易于吸收[7]。

2

9.3.2　手性药物的分布

9.3.2.1　血浆蛋白的结合作用

血浆蛋白虽然与大多数药物发生非特异性结合，但与对映体的结合具有立体选择性，因而呈现差异。与药物结合的血浆蛋白大体可分两类：白蛋白和α-酸性糖蛋白。白蛋白主要结合酸性药物，α-酸性糖蛋白结合碱性药物。若一对对映体竞争性地与血浆蛋白的同一结合位点结合，当以消旋体给药时，对映体结合的程

度不同，使得弱竞争性对映体的游离型分子浓度高于给单一对映体的游离型浓度。例如消旋的抗心律失常药丙吡胺(disopyramide，3)与血浆蛋白发生竞争性结合，*R*-和 *S*-丙吡胺的结合能力与给单一对映体有明显的不同[8]。另一抗心律失常药普洛帕酮(propafenone，4)与α-酸性糖蛋白的结合表现在 *S*-对映体的结合率为 95.1%，*R*-构型为 92.4%。虽然两者相差只约 3%，但对有效药物浓度影响很大，因为结合型和游离型药物在血管内呈动态平衡，只有游离的普洛帕酮可分布到靶组织中，所以这种结合差异对药物的分布影响很大[9]。

体内生成的手性代谢产物与血浆蛋白结合也具有立体选择性，所以手性代谢产物的一对对映体(若有的话)的活性差异，应考虑到血浆结合的因素。例如抗凝血药华法林(warfarin，5)的羟化和还原代谢产物与白蛋白的结合具有立体选择性，而且结合率很高[10]。

3　　4　　5

9.3.2.2　组织结合作用

血浆蛋白结合的立体选择性、过膜转运和组织分布的特异性，导致手性药物与组织分布和结合的立体选择性，反映在对映体的表观分布容积的差异。例如抗炎药物依托度酸(etodolec，6)*S*-构型的表观分布容积是 *R*-构型的 10 倍，当然，*S*-对映体的血药浓度低也是一个原因。*S*-布洛芬分布在关节滑液的浓度高于 *R* 型对映体，是因为在血浆内游离的 *S*-布洛芬浓度较高的缘故[11]。反之，脂肪细胞摄取布洛芬的立体选择性是以 *R*-对映体优先被摄取[12]。治疗心绞痛和高血压药物尼卡地平(nicardipine，7)对映体在不同组织中的分布选择性是不同的，例如 *S*/*R* 的浓度比在脑中为 4.3，心脏中为 1.7，而其他组织中无显著性差异[13] 。

对映体特异分布还表现在对肿瘤组织的选择性分布。*S*-亚叶酸(folinic acid，8)向癌细胞中的浓集程度高于非天然的 *R*-亚叶酸，*S*-亚叶酸作为解毒剂用于预防和阻止抗癌药物氟尿嘧啶的中枢神经毒性[14]。

6　　7　　8

9.3.3　手性药物的代谢作用

药物的生物转化有很强的立体选择性，表现在以下方面：对底物(即原药)的手性要求、手性中心的转化、对映体之间的相互作用等。

9.3.3.1　底物的立体选择性

对映体分子内的原子或基团结合顺序不同，在空间有不同的取向，导致其中一个对映体易与酶活性中心识别、匹配和结合，反应速率和转化率高，而另一对映体的则较低。这种差异也取决于手性中心与催化反应位点的距离，如果距离较近，代谢转化的选择性较高；距离较远时，则代谢转化的选择性较低。

药物代谢的立体选择性系指底物被生物转化时，对映体之间被生物系统代谢的途径和速率不同，其中一个对映体呈优势代谢，另一个差异一般为 2~5 倍。在代谢过程中若有多个酶参与多位点的代谢，立体选择性的程度也不同，例如普萘洛尔的萘环羟化和葡萄糖醛酸化为立体选择性反应，而侧链的氧化脱胺则没有选择性[15]。

对映体与酶的结合方式不同，代谢样式往往有区别，例如抗癫痫药美芬托英(mephenytoin)的 *R* 和 *S* 构型生成不同的代谢产物[16]，这是因为细胞色素 P450 的多态性所致(图 9-3)。*S*-美芬托英被 CYP2C19 催化生成 4-羟基衍生物[17]，*R*-美芬托英主要发生 *N*-去烷基作用，生成苯基乙基乙内酰脲。*S* 型的羟化速率比 *R* 型 *N*-去烷基作用快得多，因而两者的药代乃至药效学有很大差异[18]。

图 9-3　美芬托英的代谢途径

抗凝药物华法林对映体有两种代谢方式，*S*-华法林为立体选择性代谢，被 CYP2C9 催化氧化的主要产物是苯环的羟基化，生成 *S*-6-和 *S*-7-羟基华法林。由于华法林抗凝作用主要是 *S*-构型，所以 CYP2C9 的活性对抗凝作用影响较大。*R*-华法林发生区域选择性代谢，主要是酮基还原成仲醇基，产生新的手性碳，代谢产物为 *S* 构型[19] (图 9-4)。

图 9-4　消旋华法林的代谢途径

抗肿瘤药异环磷酰胺(ifosfamide，9)为消旋化合物，在体内被氧化代谢成 4-羟基异环磷酰胺(10)，为代谢活化产物，羟基化反应引入了第 2 个手性中心，形成差向异构体。还可发生 *N*-去氯乙基化反应，生成 2-*N*-去氯乙基(11)和 3-*N*-去氯乙基异环磷酰胺(12)，失去活性，且呈现神经都毒性作用。这些代谢过程是由一系列 CYP 酶催化进行的。*R*-对映体的羟化或 *N*-去氯乙基化均强于 *S*-对映体[20]。

9　　10　　11　　12

手性药物的 II 相代谢，例如与葡萄糖醛酸或谷胱甘肽的轭合反应，引入多个手性中心，所以，消选体生成的代谢轭合物为差向异构体。

9.3.3.2　前手性药物的代谢

非手性药物的体内代谢会发生立体特异性转化，产生立体异构代谢物的差异，这就是药物代谢产物的立体选择性。被代谢产生的手性中心称作前手性中心(prochiral center)。前手性中心代谢的立体选择性多见于饱和非手性碳的氧化，不饱和碳的还原，例如碳-碳双键的还原、酮基还原、环氧化物的水解、叔胺的 *N*-氧化和硫醚的 *S*-氧化等代谢产物都可创造出新的手性中心。

抗高血压药物异喹胍(debrisoquine，13)可被细胞色素 P4502D6 催化发生 4-位羟基化。这种酶具有遗传多态性，一些人群可几乎全部代谢生成 *S*-4-羟基异喹胍(14)，而另些人群则不仅代谢转化率低，而且无立体选择性，有 5%~36%羟化产物为 *R*-构型[21]。

13　　14

抗抑郁药物氟哌啶醇(haloperidol，15)是非手性分子，在细胞内被酮还原酶催化还原成仲醇，为 *S*-构型，该酮基是前手性中心[22]。

酮还原酶

15

抗癫痫药物卡马西平(carbamazepine，16)在体内发生代谢氧化，生成活化形式的 10,11-环氧卡马西平(17)，进而水解生成二醇，主要是 10*S*,11*S*-二羟基异构体(18)[23]。

16　　17　　18

手性药物的代谢位点若未发生在手性中心上，则手性中心仍保持不变。例如 *S*-氯喹(chloroquine，19)代谢成 *S*-*N*-去乙基氯喹，*R*-氯喹生成 *R*-*N*-去乙基氯喹[24]，但两者的转化速率不同，因而当给以消旋体后，生成的手性代谢产物量不同。

手性药物的代谢产物仍保持原来手性中心的构型，可用于违禁药物的检测。例如去甲麻黄碱(methamphentamine，20)的 *S*-异构体由于可治疗嗜睡症，常用作兴奋剂；*R*-异构体为治疗感冒的非处方药，两者均以光学活性形式药用，代谢产物分别为 *S*-和 *R*-苯异丙胺自尿中排出，手性中心的构型不变。但非法合成的兴奋剂去甲麻黄碱大都为消旋化合物，服用后尿中含有不等量的 *S*-和 *R*-苯异丙胺，表明服用了消旋的违禁品[25]。

19　　20

9.3.3.3　手性中心在体内的翻转

光学活性物质被代谢成它的对映体的现象，称作手性翻转(chiral inversion)。2-芳基丙酸类非甾体抗炎药在体内可发生手性翻转，抗炎作用较弱的 *R* 型异构体转变成 *S* 构型，这是 *R* 和 *S* 构型的抗炎作用相近的原因。因此，除萘普生(naproxen)使用 *S* 构型外，其余的 2-芳基丙酸抗炎药均使用消旋物[26]，这在药物经济学上是有意义的。但是不同的结构手性翻转的速率和程度不同，因而对药效和药代的影响不同，反映在不同的抗炎药体内外活性差别不同(参见表 9-1)。低活性的 *R*-布洛芬在体内发生了单向的手性代谢转化，转变成较高活性的 *S* 构型[27]。苯噁洛芬(benoxaprofen，21)、非诺洛芬(fenoprofen，22)、酮咯酸(ketorolac，23)等抗炎药都有这种手性翻转现象。

21　　22　　23

手性翻转的反应是由辅酶 A 消旋酶催化所致，*R* 异构体与辅酶 A 反应生成酰化辅酶 A 硫酯，后者经辅酶 A 消旋酶催化发生消旋化，生成烯醇化中间体，然后被辅酶 A 水解酶水解，生成 *R* 和 *S* 型各半的代谢产物。由于 *S* 异构体不能生成酰化辅酶 A 硫酯，因此该手性翻转只限于由 *R* 型转变成 *S* 构型的单向代谢转化[28]。图 9-5 是布洛芬构型翻转的历程。

合成酶 CoA, ATP, Mg^{2+}　水解酶
R-布洛芬　*R*-布洛芬辅酶A　*S*-布洛芬辅酶A　*S*-布洛芬

图 9-5　布洛芬构型翻转的历程

用氘标记布洛芬证实了上述的机制，用体外方法在形成酰化辅酶 A 硫酯后，水解出的 *R*-布洛芬原药失去了氘元素，表明发生了烯醇化。

抗癫痫药物司替戊醇(stiripentol，24)是 GABA 转氨酶和 GABA 重摄取双重抑制剂，临床应用为消旋化合物，是因为在体内发生单向构型转化，即 *R* 构型转化为 *S* 对映体，而 *S* 型不能转变为 *R* 型。3 位 H 和 O 分别用 ^{3}H 和 ^{18}O 标记的 *R*-司

替戊醇构型转化后仍保留 ^{3}H，而 ^{18}O 消失，是通过生成硫酸酯的轭合反应所致[29]。

24

9.3.3.4 对映体-对映体的代谢相互作用

如果一对对映体被同一个酶代谢转化，则分别用两个异构体与用消旋物发生的代谢状况是不同的，这是由于对映体-对映体代谢相互作用造成了单个异构体与消旋体的药理作用差别。手性药物的对映体代谢相互作用可有三种不同情况：

(1) 两个异构体被同一酶催化代谢，它们竞争酶的活性中心，结合程度的不同造成速率的差异，所以当给以消旋体时，会发生竞争性抑制作用。

(2) 两个异构体被同一酶催化代谢，但只有一个是底物的竞争性抑制剂。当给消旋体时，只有一个对映体的代谢作用受影响。

(3) 一个对映体是酶的底物，另一个是该酶的抑制剂，后者会抑制酶的代谢转化。

这种对映体-对映体相互作用现象，会因服用消旋体造成与服用单个对映体的药代和药效性质的差异。例如 I 类抗心律失常药普罗帕酮(propafenone，25)的 *R* 和 *S* 型异构体阻断钠通道的强度是相同的，但只有 *S* 型有中等强度的阻断β肾上腺受体的活性，抑制强度>1μg/mL。当口服一定剂量的 *S*-普罗帕酮后，由于难以达到上述浓度，不能产生β阻断作用。但是临床使用消旋普罗帕酮时却可出现药理活性，这是由于两个异构体之间相互作用的结果[30]。用肝微粒体与普罗帕酮温孵，表明 *R* 型异构体是 P4502D6 的竞争性抑制剂，该酶可催化 *S*-普罗帕酮羟基化反应。体内药代动力学研究表明，*R*-普罗帕酮与消旋体的动力学参数基本相同，但给消旋体后 *S* 型的代谢清除过程显著减弱，血药浓度提高，大约是给单一 *S*-普罗帕酮的 2 倍。*R* 型异构体抑制了 P4502D6 对 *S* 型的代谢，但 *R* 型代谢不受 *S* 型异构体的影响，所以消旋体呈现了β阻断作用。

抗过敏药物齐留通(zileuton，26)的 II 相代谢葡萄糖醛酸苷化反应，在 *R* 和 *S* 对映体之间存在相互作用。*R*-对映体可激活犬肝中酶，加速对 *S*-对映体的代谢；而在人体中 *R*-构型却抑制 *S*-对映体的葡醛酸苷化[31]。

25 26

9.3.4　手性药物的排泄

经肾小球滤过和肾小管分泌与重吸收对手性药物的清除，具有立体选择性作用。肾小球的滤过速率与手性药物同血浆蛋白结合的选择性密切相关，这是因为肾清除的药量取决于肾小球滤过速率和血浆中游离药物浓度。例如抗心律失常药 *S*-维拉帕米(verapamil)及其代谢产物 *S*-去甲基维拉帕米(norverapamil)的肾清除作用高于 *R* 型异构体，这是因为 *S* 型与血浆蛋白的结合率较低，使得肾小球滤过能力增强。

若药物的肾脏清除主要经肾小管主动分泌和重吸收过程，并且多以原形药排泄时，则手性药物的立体选择性对肾脏排出有很大影响。肾小管上皮细胞上含有阴离子或阳离子的转运蛋白，它们与两个对映体有不同的选择性结合，所以肾小管的主动分泌与重吸收作用的净结果具有立体选择性[32]。如果药物的手性中心距离与转运蛋白结合的位点较近，则排泄具有立体选择性。而且，由于转运蛋白有饱和性，消旋药物的两个对映体会竞争蛋白的结合位点，致使两个对映体的排泄速率不同。例如 *R*-氧氟沙星(ofloxacin，27)与 *S* 型对映体同时给猴服用，因 *R* 型抑制了肾脏对 *S*-氧氟沙星的主动分泌，与单纯给 *S*-氧氟沙星相比，降低了肾脏的消除率[33]。此外，同时给消旋体还会解除药物对某个对映体排泄的抑制，例如抗精神病药物舒托必利(sultopride，28)左旋体的肾脏排泄过程可被丙磺舒抑制，而(+)-舒托必利不受丙磺舒影响[34]。

27　　　　28

9.4　手性药物的药效学

一对对映体与受体的相互作用可存在有质的差异(有或无)或量的不同(强或弱)，这是对映体之间活性表现各异的原因。药物的消旋体本质上是两个化学实体，所以不加区别地服用消旋体药物的习惯是不科学的。在选择药用的某一对映体时，通常应全面考察一对对映体的药理活性、毒性和药代动力学等性质，综合加以判断。本节讨论手性药物对映体之间的药理活性。

9.4.1 对映体有相同的药理活性

若对映体的手性中心与受体的相互作用没有涉及受体的活性部位，则对映体之间的药理作用和强度，以及与消旋体之间没有明显差别，所以从科学的观点和经济的考虑，这类手性药物无需开发成单一的立体异构体。例如抗心律失常药氟卡尼(flecainide，29) *R* 和 *S* 型异构体的抗心律失常和对心肌钠通道作用相同[35]，吸收、分布、代谢、排泄性质也无显著区别，综合评价两者以及与消旋体比较，没有显著差异，所以临床使用消旋的氟卡尼。其他抗心律失常药美西律(mexiletine，30)和妥卡胺(tocainide，31)、*β*-受体阻断剂索他洛尔(sotalol，32)等各自的一对对映体与消旋体的体内外作用强度相同，临床上也使用它们的消旋体。

29 30 31 32

9.4.2 对映体活性相似但强度不同

两个对映体有相似的药理活性，但作用强度有明显的差异。例如作用于细菌拓扑异构酶 II 的抗菌药氧氟沙星(ofloxacin)*S*-(−)-异构体的抑酶活性是 *R*-(+)-型的 9.3 倍，是消旋体的 1.3 倍[36]，对细菌的抑菌活性 *S* 构型强于 *R* 型 8~128 倍。氧氟沙星的氮氧环上含有一个手性碳原子，甲基在母核平面的取向不同，导致与酶活性中心结合的能力不同，决定了两个异构体抗菌效力的不同。左氟沙星(levofloxacin，33)已经取代了市场上使用的消旋氧氟沙星。

抗心律失常药维拉帕米(verapamil，34)含一个手性碳原子，*S* 和 *R* 型对映体均可抑制心肌钙通道，对离体心脏和整体动物心脏功能有相似的药理活性，但强度差别很大，*S* 型明显强于 *R* 型对映体。虽然如此，目前临床使用的仍是消旋体。

抗抑郁药 5-羟色胺 2A 受体拮抗剂米安色林(mianserin，35)的一对对映体均可竞争性地与 5-HT2A 受体结合，但立体选择性不同：(+)-米安色林为优映体，比(−)-米安色林强 30 倍，临床使用消旋物。治疗前列腺增生药物比卡鲁胺(bicalutamide，36)对雄激素受体的拮抗作用，*R* 为优映体，对受体的亲和力强于 *S* 劣映体 33 倍[37]。

33　　34

35　　36

9.4.3　只有一个对映体有药理活性

手性药物中只有一个异构体有药理活性，而另一个没有或几乎没有活性，这是最常见的现象，体现了药物与生物靶点作用的立体选择性。芳乙醇胺类β-阻断剂如索他洛尔(sotalol，37)的一对对映体对β-肾上腺能受体的阻断作用有很大差别，*R* 型异构体的活性远强于 *S* 型[38]。阿替洛尔(atenolol，38)的 *S* 型异构体的活性强于 *R* 型对映体。这两个β-阻断剂似乎优映体构型相反，其实是由于确定绝对构型的原则所致。若索他洛尔为芳乙醇胺类化合物，分子中的芳基与阿替洛尔的芳氧亚甲基可视作电子等排体，两个药物手性中心的两侧取代基(药效团)在空间排列的顺序是相同的，说明β-肾上腺能受体对这两类拮抗剂的分子识别与结合有相同的立体选择性。其他芳醇胺类β-阻断剂的对映体活性差异也都非常大。

37　　38

二氢吡啶类钙拮抗剂作为一组降血压和治疗心脑血管疾病的药物，分子的不对称性造成对映体之间活性的差异。在分子结构中 3,5-二羧酸酯基的不同，构成了分子的不对称轴，形成对映体。例如氨氯地平[39] (amlodipine，39)和尼群地平(nitrendipine，40) *S* 型为优映体，有强效的拮抗钙通道作用；而 *R* 型异构体活性很弱，表明钙通道蛋白对“地平”类两个酯基在空间的配置有特异的识别和结合作用。临床应用苯磺酸左旋(*S*)氨氯地平 2.5 mg/d 的降压效果与 5 mg/d 的消旋的苯磺酸氨氯地平的效果相同。

39　　40

联苯双酯(bifendate)具有降低转氨酶、保护肝脏免受四氯化碳损伤的作用。联苯的 2,6,2′,6′-位存在取代基，苯基的旋转受阻，形成两个互为对映的阻转异构体，对映体相互转变的能垒较高，室温下可稳定地存在左旋体和右旋体。实验表明，(+)-联苯双酯(41)降转氨酶 SGPT 的活性是消旋体的两倍，为优映体，(–)型异构(42)体无活性为劣映体[40]。

41　　42

9.4.4　对映体有不同或相反的药理活性

一对对映体可分别与不同的靶标结合，呈现不同药理作用，例如抗休克药多巴酚丁胺(dobutamine)*R* 型(43)对映体对α_1受体的激动作用强于 *S* 对映体(44)，使心肌收缩力增加和外周血管收缩；但 *R* 对映体对β-受体具有拮抗作用，而 *S* 异构体对β-受体呈激动作用，虽然使心肌收缩力增加，但可使外周血管扩张[41]。

43　　44

3*R*-*N*-羟基-3-氨基吡咯烷酮(45)是 *N*-甲基-D-天冬氨酸型谷氨酸受体甘氨酸位点的部分激动剂，而 3*S*-型异构体具有γ-丁内酯的镇静作用[42]。由于 45 具有柔性构象的性质，3*R* 氨基处于准直立键位置，可以解释其部分激动作用；而 3*R*,4*S*-

甲基化合物(46)和双环类似物(47) 由于氨基处于固定的直立位置，所以呈现强激动作用[43]。

45 46 47

参 考 文 献

[1] Pfeiffer C C. Optical isomerism and pharmacological action, a generalization. Science, 1956, 124: 29-30

[2] Lehmann P A, Rodrigues de Miranda J, Ariens E J. Stereoselectivity and affinity in molecular pharmacology. Prog Drug Res, 1976, 20: 101-142

[3] Lehmann P A. Quantitation of the criticality of chiral centers toward stereoselective recognition: Epimeric eudismic analysis of 1,3-oxathiolane muscarinic agonists and antagonists. Chirality, 1990, 2: 211-219

[4] Rescigno A, Thakur A K. Stereoselective phaemacokinetics. In: New trends in pharmacokinetics. New York: Plenum Press, 1991: 227

[5] Maksay G, Tegyey Z, Simonyi M. Central benzodiazepine receptors: in vitro efficacies and potencies of 3-substituted 1,4-benzodiazepine stereoisomers. Mol Pharmacol, 1991, 39: 725-732

[6] Hendel J, Brodthagen H. Entero-hepatic cycling of methotrexate estimated by use of the D-isomer as a reference marker. Eur J Clin Pharmacol, 1984, 26: 103-107

[7] Carr R A, Pasutto F R, Longstreth J A, et al. Stereospecific determination of the in vitro dissolution of modified release formulations of (±)-verapamil in serum using achiral-chiral high performance liquid chromatography. Charality, 1993, 5: 443-447

[8] Giacomini K M, Nelson W L, Pershe R A, et al. In vivo interaction of the enantiomers of disopyra mide in human subjects. J Pharmacokinet Biopharmaceut, 1986, 14: 335-338

[9] Volz M, Mitrovic V, Schlepper M. Steady-state plasma concentrations of propafenone: Chirality and metabolism. Int J Clin Pharmacol Ther, 1994, 32: 370-375

[10] Toon S, Hopkins K J, Garstang P M, et al. The warfarin-cimetidine interaction: stereochemical considerations. Br Clin Pharmacol, 1986, 21: 245-246

[11] Seideman P, Lohrer F, Graham G G , et al. The stereoselective disposition of the enantiomers of ibuprofen in blood, blister and synovial fluid. Br J Clin Pharmacol, 1994, 38: 221-227

[12] Williams K, Day R, Duffield A. The stereoselective uptake of ibuprofen enantiomers into adipose tissue. Biochem Phaemacol, 1986, 35: 3403-3405

[13] 王嗣岑，贺浪冲，刘飞．手性和非手性联用色谱法研究尼卡地平对映异构体兔体内过程的差异性．药学学报, 2001, 36: 364-367

[14] Mader R M, Steger G G , Rizovski B, et al. Pharmacokinetics of racleucovorin vs (S)-leucov

-orin in patients with advanced gastrointestinal cancer. Br J Clin Pharmacol, 1994, 37: 243-248

[15] Walle T, Walle U K, Wilson M J, et al. Stereoselective ring oxidation of propranolol in man. Br J Clin Pharmacol, 1984, 18: 741-748

[16] Kuepfer A, Roberts R K, Schenker S, et al. Stereoselective metabolism of mephenytoin in man. J Pharmacol Exp Ther, 1981, 218: 193-199

[17] Goldstein J A, Faletto M B, Romkes-Sparks M, et al. Evidence that CYP2C19 is the major (S)-mephenytoin 4'-hydroxylase in humans. Biochemistry, 1994, 33: 1743-1752

[18] Wedlund P J, Aslanian W S, Jacqz E, et al. Phenotypic differences in mephenytoin pharmacokinetics in normal subjects. J Pharmacol Exp Ther, 1985, 234: 662-669

[19] Rettie A E, Korzekwa K R, Kunze K L, et al. Hydroxylation of warfarin by human cDNA-expressed cytochrome P-450: a role for P-4502C9 in the etiology of (S)-warfarin-drug interactions. Chem Res Toxicol, 1992, 5: 54-59

[20] Granvil C P, Ducharme J, Leyland-Jones B, et al. Stereoselective pharmacokinetics of ifosfa -mide and its 2- and 3-N-dechloroethylated metabolites in female cancer patients. Cancer Chemother Pharmacol, 1997, 40: 531-533

[21] Echizen H, Manz M, Eichelbaum M. Electrophysiologic effects of dextro- and levo-verapamil on sinus node and AV node function in humans. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 1988, 12: 543-546

[22] Eyles D W, Pond S M. Stereospecific reduction of haloperidol in human tissues. Biochem Pharmacol, 1992, 44: 867-871

[23] Pirmohamed M, Kitteringham N R, Breckenridge A M, et al. The effect of enzyme induction on the cytochrome P450-mediated bioactivation of carbamazepine by mouse liver microsomes. Biochem Pharmacol,1992, 44: 2307-2314

[24] Augustijns P, Verbeke N. Stereoselective pharmacokinetic properties of chloroquine and de-ethylchloroquine in humans. Clin Pharmacokinet, 1993, 24: 259-269

[25] Cooke B J. Chirality of methamphetamine and amphetamine from workplace urine samples. J Anal. Toxicol, 1994, 18: 49-51

[26] Evans A M. Enantioselective pharmacodynamics and pharmacokinetics of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs. Eur J Clin Pharmacol, 1992, 42: 237-256

[27] Williams K M. Enantiomers in arthritic disorders. Pharmacol Ther, 1990, 46: 273-295

[28] Hall S D, Qi X T. The role of coenzyme A in the biotransformation of 2-arylpropionic acids. Chem Biol Interact, 1994, 90: 235-251

[29] Zhang K, Lepage F, Cuvier G, et al. The metabolic fate of stiripentol in the rat: Studies on cytochrome P-450-mediated methylenedioxy ring cleavage and side-chain isomerism. Drug Metab Dispos, 1990, 18: 794-803

[30] Kroemer H K, Fromm M F, Buhl K, et al. An enantiomer-enantiomer interaction of (S)- and (R)-propafenone modifies the effect of racemic drug therapy. Circulation, 1994, 89: 2396-2 400

[31] Sweeny D J, Nellans H N. Stereoselective glucuronization of zileuton islmers by human hepatic microsomes. Drug Metab Dispos. 1995, 23: 149-153

[32] Higaki K, Kadeno K, Goto S, et al. Stereoselective renal tubular secretion of an organic anion in

the isolated perfused rat kidney. J Pharmacol Exp Ther, 1994, 270: 329-335
[33] Okazaki O, Kurata T, Haksui H, et al. Species-related stereoselective disposition of ofloxacin in the rat, dog and monkey. Xenobiotica, 1992, 22: 439-450
[34] Kamizono A, Inotsumi N, Fukushima S, et al. Inhibitory effects of procainamide and probenecid on renal excretion of sultopride enantiomers in rats. J Pharm Sci, 1993, 82: 1259-1261
[35] Hill R J, Duff H J, Sheldon R S. Determinants of stereospecific binding of type I antiarrhythmic drugs to cardiac sodium channels. Mol Pharmacol, 1988, 34: 659-663
[36] Imamura M, Shibamura S, Hayakawa J, et al. Inhibition of DNA gyrase by optically active ofl -oxacin. Antimicrob Agents and Chemother, 1987, 31: 325-327
[37] Mukherjee A, Kirkovsky L, Yao X T, et al. Enantioselective binding of Casodex to the androgenn receptor. Xenobiotica, 1996, 26: 117-122
[38] Fiset C, Philippon F, Gilbert M, et al. Stereoselective disposition of (±)-sotalol at steady-sta -te conditions. Br J Clin Pharmacol. 1993, 36: 75-77
[39] Goldmann S, Stoltefuss J, Born L, et al. Determination of the absolute configuration of the active amlodipine enantiomer as (−)-S: A correlation. J Med Chem, 1992, 35: 3341-3344
[40] 中国医学科学院药物研究所.中草药现代研究. 第 I 卷. 北京: 科学出版社, 1995, 382
[41] Roffole R R, Messick K. Effects of dopamine, (±)-dobutamine and the (+)- and (−)-enantiomers of dobutamine on cardiac function in pithed rats. J Pharmacol Exp Ther, 1985, 235: 558-565
[42] Singh L, Donald A E, Foster A C, et al. Enantiomers of HA-966 (3-amino-1-hydroxypyrrolid-2-one) exhibit distinct central nervous system effects: (+)-HA-966 is a selective glycine/ N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, but (−)-HA-966 is a potent γ-butyrolactone like sedative. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 347-351
[43] Leeson P D, Carling R W, James K, et al. Role of hydrogen bonding in ligand interaction with the N-methyl-D-aspartate receptor ion channel. J Med Chem, 990, 33 :1296-1305

第 10 章　化学治疗药物

化学治疗药物(chemotherapeutic agent)是一类对寄生在人体中的有害生物体有毒性，而对宿主细胞无害的化学物质，所以化疗药物是一类具有选择性毒性(selective toxicity)药物。为了获得这种选择性毒性，应充分了解寄生细胞与宿主细胞之间存在的基因、生物化学和生理学的差异，并以此作为化疗药物攻击的环节。这种差异越大，化疗药物的选择性作用越高。这些差异程度主要取决于病原体与宿主在进化过程中的远近关系。

致病的生物体是多种多样的，最常见的是细菌，为原核生物(prokaryote)，主要特征是没有细胞核，构成一类寄生物；真菌、原虫和寄生虫等病原体属于真核生物(eukaryote)，细胞中含有细胞核，细胞的结构与生化过程与人体细胞有相似性。病毒作为一类寄生物具有特殊的性质，它们本身没有产生能量或进行生物合成所需要的生化过程和机制，而是利用宿主细胞的代谢过程，实现生长和繁殖过程。严格地讲，病毒不是细胞。治疗病毒感染的药物有其特殊性。

癌细胞是另一类寄生细胞，它源于宿主细胞，因环境因素(物理、化学或生物学因素)或遗传因素导致细胞脱离了正常调控装置的“约束”，变成恶性变(malignancy)的宿主细胞，并可生长繁殖转移。所以，癌细胞既来自宿主细胞，又可视作外来的寄生细胞，与宿主的正常细胞非常相似，造成研制高选择性抗癌药物的困难，这是许多抗癌药物的毒性之所在。

10.1　化学治疗的分子基础

利用寄生细胞与宿主细胞的生理学和生物化学之间的差异，是化疗药物的作用基础。为了方便叙述，我们首先以细菌为对象，研究化疗药物对其生化过程的作用环节，然后再讨论抗癌药物和抗病毒药物的作用特征。

细菌是原核生物，最外层是细胞壁，细胞壁中含有肽聚糖(peptidoglycan)，为细菌所特有的成分。细胞壁内是胞浆膜，膜由双层磷脂和蛋白质所组成，这与真核生物细胞的结构相似，但磷脂层上没有甾类物质，因而对化学物质的穿透性有所区别。胞浆内渗透压较高(革兰氏阳性菌为 5 kg/cm^2，阴性菌为 20 kg/cm^2)，细胞壁具有致密结构以维持细菌的稳固形态。

胞膜内是胞浆，含有可溶性蛋白质，这些蛋白大多有酶的功能。胞浆内含有

核糖体，负责蛋白质的生物合成。还含有代谢过程中的中间产物和无机离子等，这些与真核生物的胞浆内物质相似。细菌没有细胞核，遗传物质含于胞浆中，单个染色体上保存着细菌的全部遗传信息。染色体上没有组蛋白。细菌没有线粒体，能量产生于胞浆中，这与真核细胞不同。

根据细菌体内发生的不同生化反应类型可将化疗药物的作用靶标分为 3 类：第 1 类是干扰葡萄糖和其他碳源的利用，从而影响能量和 ATP 产生，以及简单有机物的合成，这些有机物是进行下游反应的重要前体；第 2 类是干扰能量和前体化合物的利用，阻断氨基酸、核苷、磷脂、氨基糖以及生长因子等小分子的合成；第 3 类是干扰上述小分子的聚合，阻断生物大分子的合成过程，因而抑制了蛋白质、DNA、RNA、多糖和肽聚糖的生物合成。抗菌药物中有可能一种药物作用于一类生化反应的多个环节，也可能同时干扰上述两类或三类不同的反应。

10.2　生化反应的重要靶标

10.2.1　干扰有机小分子生物合成的抑制剂

影响细菌的有机物合成的生化反应和能量的产生不是化疗药物的理想靶标，主要原因是细菌或其他寄生物由葡萄糖获得能量的过程与人体细胞没有显著区别，而且即使阻断了葡萄糖代谢途径，细菌还会代偿性地利用氨基酸或乳酸等获得能量，所以，针对这一类生化反应还没有高选择性的化疗药物。

10.2.2　干扰叶酸、氨基酸和核苷酸生物合成的抑制剂

细菌具有合成氨基酸、核苷酸、氨基糖和磷脂等小分子的功能，而人体不能自身合成，需从环境中摄取，所以这类反应是较好的作用环节。例如，人类在进化过程中失去了合成某些氨基酸(即所谓的必需氨基酸)、生长因子和维生素的能力，而细菌可以自行合成。而且，即使人体与微生物之间有些生化过程相同，但对药物的敏感性差别较大，所以也可以作为选择性的作用靶标，其中最重要的反应是干扰叶酸的合成和嘌呤与嘧啶的合成。

10.2.2.1　叶酸的作用

细菌和人体合成 DNA 时都需要叶酸(folic acid)，人体不能合成叶酸，只能从膳食中经特定的转运机制摄入细胞中；而细菌所需要的叶酸靠本身合成，即由蝶啶、对氨基苯甲酸和谷氨酸经酶催化而生成。

叶酸具有重要的生物学功能，它的活性体四氢叶酸(FAH_4)是叶酸经二氢叶酸还原酶(DHFR)催化，被 NADPH 还原先生成二氢叶酸(FAH_2)，进而还原成 FAH_4，

如下式所示：

NADPH + H^+　$NADP^+$　DHFR　NADPH + H^+　$NADP^+$　DHFR

CH_2NH—　CH_2NH—　CH_2NH—

叶酸　二氢叶酸　四氢叶酸

在 FAH_4 的 N_5 和(或)N_{10} 位可结合一碳单位，例如 N_5-CH_3，N_5 或 N_{10}-CHO，N_5,N_{10}-CH_2-，N_5,N_{10}=CH-等。这些含一碳单位的 FAH_4 在细胞内合成嘌呤或嘧啶以及某些氨基酸时起重要作用。例如嘌呤的 *de novo* 合成需要的两个一碳团均依赖于叶酸的转移，构成嘌呤环的 C_2 和 C_8 原子：

来自N^{10}—(CHO)FAH_4 ⟶　⟵ 来自$N^{5'}$,N^{10}—(CH_2—)FAH_4

胸腺嘧啶的甲基也来自结合于 FAH_4 的一碳团，例如一磷酸脱氧胸苷(DTMP)的生物合成是一磷酸脱氧尿苷(DUMP)与 N_5,N_{10}-CH_2-FAH_4 在胸苷酸合成酶(thymidylate synthase)催化下，经甲基转移酶生成，如图 10-1 所示。

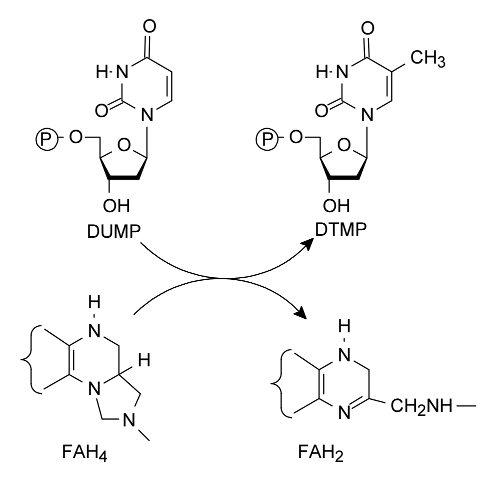


图 10-1　以磷酸脱氧胸苷的生物合成

含一碳单位的 FAH_4 是甲基供体，反应后生成 FAH_2，再经还原成 FAH_4 并结合亚甲基后参与下一个转甲基反应。叶酸在氨基酸相互转变的反应中也有重要作用，例如甘氨酸生成丝氨酸，高半胱氨酸生成甲硫氨酸，甲酰亚胺基谷氨酸生成谷氨酰胺等。

10.2.2.2　磺胺类药物

磺胺类药物(sulfonamides)是含有对氨基苯磺酰胺结构的化合物，为对氨基苯甲酸(PABA)的抗代谢物。所谓抗代谢物是化学结构类似于必需的代谢物，它取代了代谢物在生物系统中的位置，但没有代谢物的功能，因此阻断或干扰了细胞的正常功能。

磺胺类抗菌药的作用靶标是二氢蝶酸合成酶(dihydropteroate synthase)，后者是催化二磷酸二氢蝶啶(dihydropteridine diphosphate)的缩合反应，生成蝶酸的酶系。

二氢蝶酸合成酶

对氨基苯磺酰胺与 PABA 的化学结构相似，分子尺寸、几何形状、电荷分布和物化性质的相似性(图 10-2)，使得磺胺药物为二氢蝶酸合成酶的竞争性抑制剂。

图 10-2　对氨基苯磺酰胺与 PABA 的分子尺寸和电荷分布的比较

10.2.2.3　叶酸拮抗剂

前已述及，FAH_4 作为辅因子参与胸苷酸的生物合成，在细菌和人体细胞中所进行的反应是相同的，区别在于由 FAH_2 合成 FAH_4 的关键酶二氢叶酸还原酶对磺胺的敏感性有较大区别，例如甲氧苄啶(trimethoprim，TMP，1)和溴莫普林(brodimoprim，2)作为叶酸拮抗剂，对细菌二氢叶酸还原酶的抑制很强，对人体酶几乎无作用，对疟原虫的二氢叶酸还原酶的敏感性也较低。由于细菌出现对 TMP 的耐药性，伊拉普林(iclaprim，3)作为 TMP 的类似物，提高了对耐药菌株的活性[1]。

1　　2　　3

乙胺嘧啶(pyrimethamine，4)和氯胍(proguanil，5)对疟原虫的 DHFR 的抑制作用强于对人体和细菌的作用，因而用作抗疟药。三甲曲沙(trimetrexate，6)的结构相似于甲氧苄啶，但对细菌 DHFR 作用很弱，而对肿瘤细胞有选择性抑制作用，因而用作抗肿瘤药物[2]。

4　　5　　6

甲氨蝶呤(methotrexate，MTX，7)是叶酸的电子等排体，对人体细胞 DHFR 有强抑制作用，而对细菌酶无活性。甲氨蝶呤的蝶啶环、甲胺片段或苯环经电子等排置换，得到选择性更强的叶酸代谢物。例如伊达曲沙(edatrexate，8)抑制癌细胞生长作用强于甲氨蝶呤 5~20 倍[3]，培美曲塞(pemetrexed，9)是二氢叶酸还原酶、胸苷酸合成酶(TS)和甘氨酰胺核苷酸甲基转移酶(GARTF)三重抑制剂[4]。

7　　8

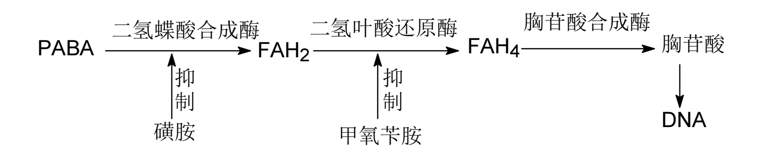
9

表 10-1 列出甲氧苄啶、乙胺嘧啶和甲氨蝶呤对不同生物体 DHFR 的选择性作用。

表 10-1　二氢叶酸还原酶抑制剂选择性活性的比较(IC_{50},μmol/L)

	人	疟原虫	细菌
甲氧苄胺	26.0	0.07	0.005
乙胺嘧啶	0.7	0.0005	2.7
甲氨蝶呤	0.001	0.1	无活性

磺胺类抗菌药与叶酸拮抗剂联合应用治疗细菌感染，因协同作用而提高了疗效。两类药物作用于细菌生化过程的不同环节，优于只作用于单一靶标，合用时的剂量均低于单一用药的剂量，所以降低了不良反应的发生。例如磺胺甲基异噁唑(sulfamethoxazole)与甲氧苄啶的复方制剂，称作复方新诺明，治疗细菌性感染。



10.2.2.4　胸苷酸合成酶抑制剂

胸苷酸合成酶(TS)是抗癌药物的重要靶标，催化去氧尿苷酸(dUMP)的甲基化生成胸苷酸(dTMP)的反应，这是体内胸苷酸 *de novo* 合成的唯一途径。胸苷酸合成酶抑制剂阻止 FAH_4 向 dUMP 输送一碳基团。在催化过程中，形成了 TS-dUMP-FAH_4 三元复合物，胸苷酸合成酶同时识别和结合 dUMP 和 FAH_4 两个底物，它的某些抑制剂结构与二氢叶酸还原酶抑制剂很相似，例如雷替曲塞(raltitrexed，10)，临床用于治疗结肠癌和白血病[5]。

10

10.2.2.5　嘧啶和嘌呤的类似物

嘧啶和嘌呤类似物主要是干扰胸苷酸或嘌呤核苷酸的生物合成，用于肿瘤的化学治疗。例如氟尿嘧啶(5-fluorouracil，11)是尿嘧啶的抗代谢物，氟原子代替 5 位的氢原子，由于氟和氢的体积相近，可以蒙骗进入核苷酸中，干扰胸苷酸的合成。氟胞嘧啶(flucytosine，12)是抗真菌药物，在细胞内脱除氨基生成氟尿嘧啶。由于在人体细胞中脱氨基作用甚低于真菌细胞，故对真菌有选择性作用。

巯嘌呤(6-mercaptopurine，6-MP，13)和硫鸟嘌呤(thioguanine，14)作为嘌呤化合物的抗代谢物，参入到核苷酸中，是抗肿瘤药物。

11　　12　　13　　14

10.2.3　阻止生物大分子聚合反应的抑制剂

阻止生成生物大分子的聚合反应，是对外源性生物特别是细菌的选择性毒性的最佳环节，这是因为每种细胞都要制造自己的大分子，不能从外界环境中摄取。人体细胞与寄生细胞对这类生化反应有明显的差异。

10.2.3.1　肽聚糖的合成

细菌的细胞壁是由肽聚糖构成，人体细胞和所有真核生物细胞都没有这类肽聚糖。细胞壁犹如致密的封闭袋，包裹着具有很大渗透压的浆膜和胞浆。革兰氏阴性菌的细胞壁只有一层，阳性菌最多可达 40 层，每层都是由 *N*-乙酰葡萄糖胺(NAG)和 *N*-乙酰黏液酸(NMAMA)交替结合而成的聚合物构成。*N*-乙酰黏液酸具有短胺侧链，交叉连接形成网状结构。网状结构足以能够耐受胞浆的巨大内压而不致破碎。不同的菌株有不同的网状结构。

体内合成肽聚糖时，细胞需将胞浆中的成分在膜外建成不溶性的聚合物结构，为了将这些亲水性成分转移到亲脂性的细胞膜上，将可溶性成分结合在含有 55 个碳原子的脂质载体上，带到细胞膜处并穿越到膜外，开始细胞壁的生物合成。

首先，连接着二磷酸尿苷(UDP)和一个五肽的 *N*-乙酰黏液酸被转运到膜上 C_{55} 脂质载体上，释放出 UDP，然后与 *N*-乙酰葡萄糖胺反应，生成具有五肽的二糖，并连接在载体上，这个连有肽链二糖是建造肽聚糖的基本结构元件，转运到细胞膜外，加到肽聚糖的末端，使肽聚糖增大。肽聚糖释放掉的 C_{55} 脂质载体仍然连接着二磷酸基，失掉一个磷酸后，为下一次循环做好准备。然后，在肽聚糖层上发生糖肽侧链的交叉连接，末端的丙氨酸水解反应提供了该交叉连接所需的能量。图 10-3 是细胞壁的生物合成反应示意图。

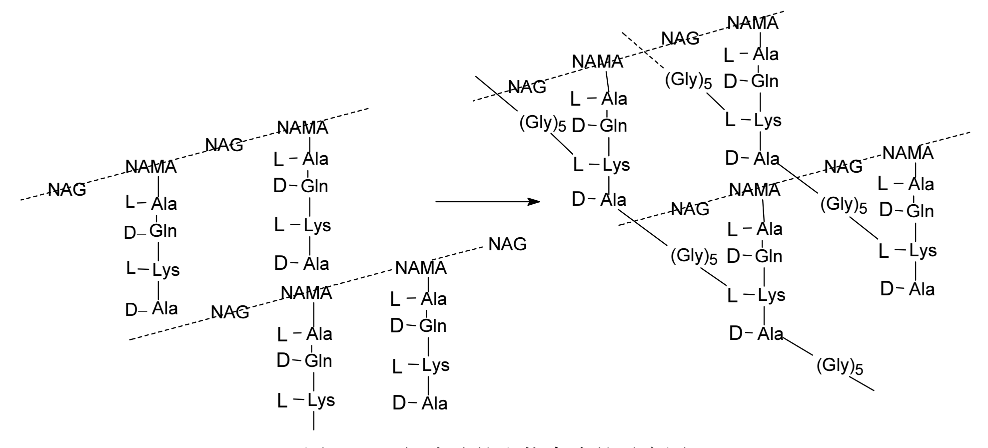


图 10-3　细胞壁的生物合成的示意图

五肽合成的初始阶段是将末端的两个丙氨酸加合到与 MNAMA 相连的三肽侧链上，如图 10-4 所示。

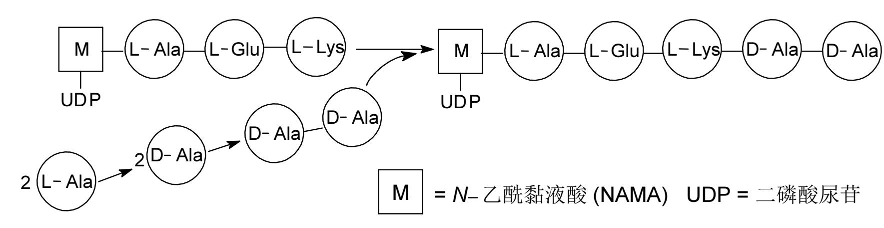


图 10-4　连接于 *N*-乙酰黏液酸上的五肽合成

两分小子的 L-丙氨酸发生异构化生成 D-丙氨酸(15)，并连接成 D-Ala-D-Ala，后者与 *N*-乙酰黏液酸上的三肽相连，形成了肽的基本构件。L-丙氨酸的异构化和生成 D-Ala-D-Ala 的反应可被 D-环丝氨酸(D-cycloserine，16)阻断，这是因为 D-环丝氨酸与 D-丙氨酸的结构有相似性。

15　　　　16

抑制肽聚糖合成的药物，最重要的是*β*-内酰胺类青霉素和头孢菌素。这类药物的作用环节是抑制最后一步的转肽反应，阻断了图 10-3 的交叉连接反应。

β-内酰胺的四元环结构有较大的张力和一定的亲电性，并合了四氢噻吩或噻嗪环后提高了四元环的张力和亲电性。更重要的是*β*-内酰胺的立体结构与

D-Ala-D-Ala 有相似性(见第 3 章)，可被转肽酶识别、结合而产生抑制作用，这是 β-内酰胺类抗生素选择性作用的结构基础。

基于β-内酰胺环的化学结构特点，可分为 6 类：青霉素类(penicillins，17)，头孢菌素类(cephalosporins，18)，青霉烷砜类如舒巴坦(sulbactam，19)，氧青霉素类如克拉维酸(clavulanic acid，20)，碳青霉烯类(carbapenem)如美洛培南(meropenem，21)和单环β-内酰胺类(monobactams，22)。

17　　18　　19

20　　21　　22

万古霉素(vancomycin)是含有 7 个氨基酸的糖肽, 抑制革兰氏阳性菌生长，其作用机制是以二聚体形式与细菌胞壁黏肽中的 D-Ala-D-Ala 形成交叉连接，阻止细胞壁的基本元件从脂质载体的释放，抑制肽聚糖的末端增长过程，阻断了细胞壁的生物合成。图 10-5 是万古霉素(上)与携带 D-Ala-D-Ala 的肽链(下)经由 5 个氢键(虚线)构成的网络相结合，阻止了转肽反应。对万古霉素产生耐药的细菌，其生化特征是肽链中末端的 D-Ala-D-Ala 变异成 D-Ala-D-Lac(D-乳酸)，丙氨酸的-NH-变成乳酸的-O-，缺少一个氢键的结合，不能抑制该转肽过程[6]。

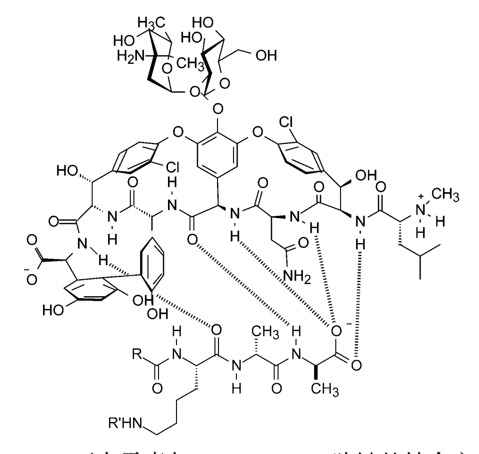


图 10-5　万古霉素与 D-Ala-D-Ala 肽链的结合方式

杆菌肽(bacitracin，23)是多肽类抗生素，主要成分是杆菌肽 A，抑制革兰氏阳性菌的脂质载体的二磷酸化，因而阻止了脂质载体的再生功能。

23

10.2.3.2　干扰蛋白质合成

蛋白质的合成场所是在胞浆中的核蛋白上，称作核糖体。核糖体的基本单元是信使 RNA(mRNA)模板，细菌和真核细胞的核糖体不同，细菌的核糖体是由一个 50S 和一个 30S 亚基所组成，而哺乳动物的核糖体是由 60S 和 40S 亚基组成，因而一些抗生素可选择性地抑制。

细菌蛋白质合成过程简述如下：

(1) 由 DNA 转录的 mRNA 与核糖体的 30S 亚基结合，核糖体沿着 mRNA 移动，将信使中的密码依次由核糖体的 A 区(右侧)移到 P 区(左侧)，密码是由三个核苷酸形成的三联体(triplet)决定一个特定的氨基酸。

(2) P 区含有待增长的肽链，该肽链与转移 RNA(tRNA)相连接。下一个要连接在肽链上的氨基酸，通过它特有的反密码子(anticodon)与其特异的 tRNA 相连，并移至 A 区，经密码-反密码的识别作用，连接到肽链上。密码-反密码的识别是由存在的互补碱基对所决定。

(3) 转肽反应是把进入 A 区的 tRNA 携带的氨基酸连到 P 区 tRNA 相连的肽链上。

(4) 肽链从 tRNA 上移除，tRNA 离开 P 区。

(5) A 区的 tRNA 平移到 P 区，同时核糖体相对与 mRNA 移动一个密码。

(6) 新的 tRNA 携带下一个氨基酸，并带有相应的反密码子，移动到 A 区，并重复上述过程。

图 10-6 是核糖体合成肽链的示意图。

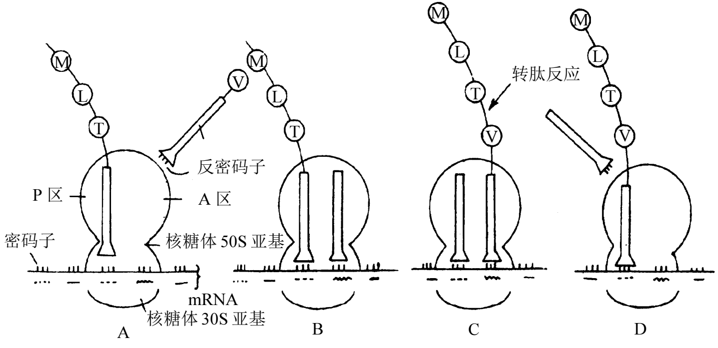


图 10-6　核糖体合成肽链的示意图

A：连接 mRNA 的核糖体，mRNA 不同的密码子由三个核苷酸决定一个特定的氨基酸，用…、–、---、~~~等表示。连接肽链 M-L-T 的 tRNA 处于 P 区，靠密码子-反密码子识别系统定位。携带新氨基酸 V 的 tRNA 准备进入核糖体内。B：进入的 tRNA 借互补对的识别作用，定位于核糖体的 A 区。C：发生转肽反应，在 A 区连接于 tRNA 的肽链现在已是-M-L-T-V。P 区的 tRNA 失去了肽链。D：失去肽链的 tRNA 自 P 区释出，连接新肽链的 tRNA 由 A 区移至 P 区，空出 A 区准备接纳下一个携带新氨基酸的 tRNA。核糖体移到 mRNA 的下一个密码子

基于上述过程的不同环节，可将影响细菌蛋白质合成的药物分为以下 5 类：

(1) 与细菌核糖体 30S 亚基结合的药物，阻止被氨基酸酰化的 tRNA 到达 mRNA-核糖体复合物的 A 区受体上，例如四环素类药物。这类药物以被动扩散方式经细菌的疏水性通道进入革兰氏阳性菌体内，穿越细胞外膜经主动转运机制(耗能)泵入胞浆中，所以表现为选择性地被细菌摄取。四环素与核糖体呈竞争性结合，抑制细菌的生长。表 10-2 列出了四环素类药物的结构。

表 10-2　四环素类药物的结构

药物	R_1	R_2	R_3	R_4
四环素(tetracycline)	H	OH	CH_3	H
金霉素(chlortetracycline)	Cl	OH	CH_3	H
土霉素(oxytetracycline)	H	OH	CH_3	OH
地美环素(demeclocycline)	Cl	OH	H	H
美他环素(methacycline)	H	$=CH_2$		OH
多西环素(doxycycline)	H	H	CH_3	OH
米诺环素(minocycline)	$N(CH_3)_2$	H	H	H
硝环素(nitrocycline)	NO_2	CH_3	OH	H

为克服四环素耐药性问题，可在 9 位引入亲脂性碱性侧链，如替加环素(tigecycline，24)，提高了对耐药菌株的敏感性[7]。

24

(2) 干扰密码子-反密码子的识别作用，导致细菌读错信息。例如氨基糖苷类链霉素(streptomycin)、卡那霉素(kanamycin)和庆大霉素(gentamycin)等(图 10-7)。它们结合于细菌核糖体 30S 亚基的 mRNA 起始密码子 AUG，发生密码识别的错位，导致 mRNA 错读，产生有缺陷的蛋白质，从而起到杀菌作用。

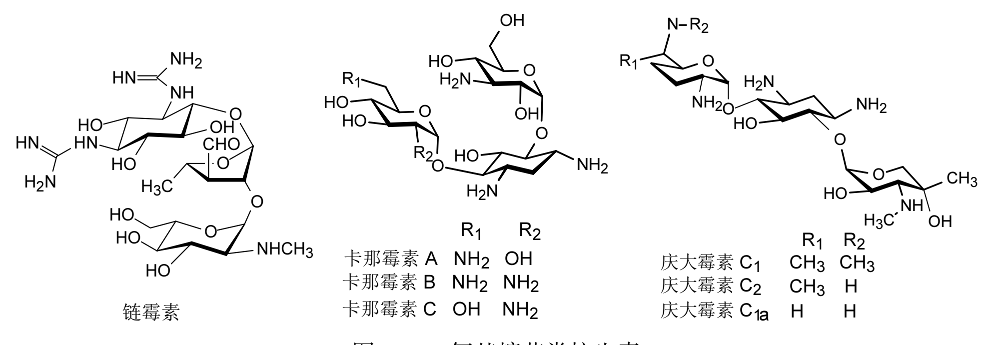


图 10-7　氨基糖苷类抗生素

(3) 抑制转肽反应，例如氯霉素(chloramphenicol，25)结合于细菌核糖体的 50S 亚基上。

(4) 中断肽链的合成。例如嘌呤霉素(puromycin，26)，其结构类似于氨基酸酰化的 tRNA 的氨基酸酰基腺苷，因而可结合于核糖体 50S 亚基的 A 区，嘌呤霉素的氨基与肽链形成肽键，中止了肽链的合成。

25　　　　26

(5) 抑制 tRNA 的平移。例如红霉素(erytheomycin，27)和大观霉素(spectinomycin)等抑制 tRNA 由 A 区向 P 区的移动。红霉素有杀菌和抑菌作用。它的游离碱基结合于细菌核糖体 50S 亚基上，这与氯霉素和氯洁霉素的结合部位相同，所以这三种药物有时有对抗作用。克拉霉素(clarithromycin，28)是红霉素 6 位羟基的甲基化产物[8]，由于避免了与 9 位羰基缩合成半缩酮，提高了抗菌活性，并降低了副作用。红霉素结构可修饰的位点较多，阿奇霉素(azithromycin，29)[9]和泰利霉素(telithromycin，30)[10]为新一代上市的大环内酯药物。

27　　28

29　　30

利奈唑胺(linezolid，31)是抗革兰氏阳性菌药物，作用于 30S 核糖体，在细菌的蛋白质合成中抑制复合物的形成。由于作用机制有别于其他抗生素，对甲氧西林耐药葡萄球菌和万古霉素耐药的肠球菌敏感，无交叉耐药，是已经批准的口服的广谱抗菌药。这类药物的研究是从具有抗植物病害的芳基噁唑烷酮开始的，分子中羟甲基芳基噁唑烷酮是必需的药效片段[11]。其类似物依派唑胺(eperezolid，32)和 ranbezolid(33) [12]为处于临床研究的候选药物。

31　　　　　　32　　　　　　33

10.2.3.3　干扰核酸的合成

细胞中核酸包括有 DNA 和 RNA，RNA 又分为 3 种：mRNA，tRNA，核糖体 RNA(rRNA)。rRNA 是核糖体中的一完整部分，功能是与 mRNA 相结合，参与蛋白质的合成。

DNA 在细胞核内以双螺旋形式存在，每股螺旋是核苷酸的线形聚合物。核苷酸由脱氧核糖与磷酸交替连接而成，糖上连接碱基，碱基有腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和胞胞嘧啶(C)。DNA 的双螺旋结构是由一股的碱基与另一股的互补碱基形成特异的氢键所维持。氢键是在 A—T 和 G—C 之间形成的，分别有两个和三个氢键，如图 10-8 所示。DNA 双螺旋本身又盘旋形成超螺旋(supercoil)结构。

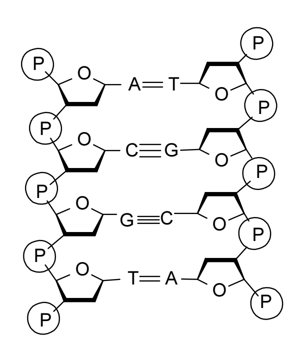


图 10-8　维持 DNA 双螺旋的氢键示意图

DNA 双螺旋通常形成环状结构，即所谓松环 DNA(relaxed circular DNA)，松环 DNA 因太长难以封闭在细胞内，为此形成了紧固的正超螺旋(positive supercoil)。DNA 的复制和转录，需将正超螺旋解开，催化该过程的酶称作 DNA 促旋酶(DNA gyrase)，它将 DNA 的一种拓扑结构转变成另一种拓扑结构。DNA 促旋酶通过水解切断 DNA 骨架上的磷酸二酯键，使正超螺旋解曲成松环 DNA，再封合成负超螺旋(negative supercoil)。其中 A 亚基由 *gyr*A 编码，负责 DNA 的断裂和重接；B 亚基由 *gyr*B 编码，催化 ATP 的水解。图 10-9 是 DNA 促旋酶催化 DNA 变旋的模式图。

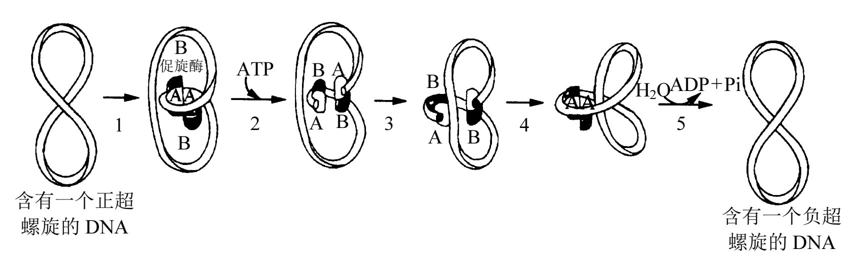


图 10-9　促旋酶催化 DNA 超螺旋转变的示意图

促旋酶首先与正超螺旋结合，被大约 200 个碱基对包裹(步骤 1)，ATP 参入并结合，启动 DNA 双链的解开(步骤 2)，在一条 DNA 链的断裂部位被另一条 DNA 的四个核苷酸驱动，一个端点绕过另一条链(步骤 3)，然后在断裂处连接成双螺旋(步骤 4)，被结合的 ATP 水解成 ADP，释放出促旋酶，DNA 变成负超螺旋结构(步骤 5)。

喹诺酮类药物与游离的 DNA 双链结合力很弱，而与促旋酶-DNA 复合物紧密结合，结合的位点是促旋酶的 A 亚基部位。在 DNA 断裂的某些阶段，喹诺酮分子可插入到促旋酶-DNA 复合物的袋状结构中，借助于喹诺酮与 DNA 的碱基形成的氢键、疏水或范德华作用，形成促旋酶-DNA 和喹诺酮的三元复合物，阻断了 DNA 的断裂-重接的循环和细菌的生长。

喹诺酮类药物抑制促旋酶的构效关系进行了充分的研究，环上的 8 个位置的构效关系列于图 10-10 中。

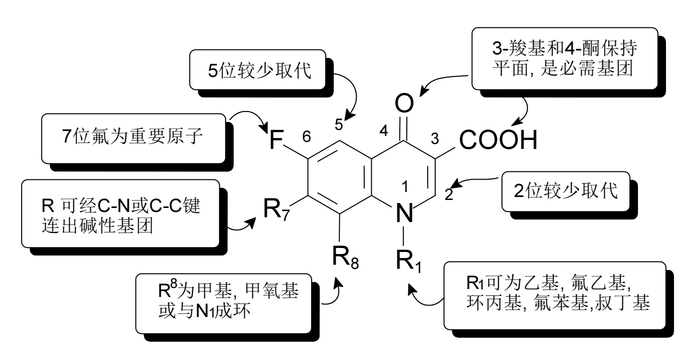


图 10-10　喹诺酮类化合物的构效关系

有代表性的药物有左氧氟沙星(levofloxacin，34)、莫西沙星(moxifloxacin，35)、托氟沙星(tosufloxacin，36)、吉米沙星(gemifloxacin，37)和普卢利沙星(prulifloxacin，38)等。

34　　35　　36

37　　38

核糖核酸 RNA 是核苷酸聚合物，与 DNA 的区别是呈单链存在，RNA 碱基中没有胸腺嘧啶，而是尿嘧啶，即 A－U 和 G－C，糖基是核糖。药物干扰核酸的生物合成可以有以下 4 个环节：

(1) 抑制核苷酸的合成，与前述的抑制脱氧核苷酸相似。

(2) 改变模板的碱基配对性质。能够嵌入 DNA 螺旋的药物均有此这种作用，例如吖啶类局部抗菌药，其作用是吖啶环嵌入使得相邻的碱基对之间的距离加长，引起移码突变(frame-shift mutation)。抗疟药氯喹的活性也因嵌入作用，导致 mRNA 变异。图 10-11 是 DNA 的移码突变引起 mRNA 密码错位的示意图。

正常 mRNA	UCU	UUU	CUU	AUU	GUU	UCU
	Ser	Phe	Leu	Ile	Val	Ser
突变 mRNA	UCU	UUG	UCU	UAU	UGU	UUC
	Ser	Leu	Ser	Tyr	Cys	Phe

图 10-11　DNA 的移码突变引起 mRNA 密码错位的示意图

图 10-11 表明，在 DNA 移码突变后，加入了一个胞嘧啶碱基，形成的 mRNA 额外增加了与之互补的鸟嘌呤 G，使后面的密码完全错位，以致改变了蛋白质的组成。嘌呤或嘧啶的类似物也会引起 RNA 的错误配对。抗病毒药阿糖腺苷就具有这种作用。

(3) 抑制 DNA 或 RNA 聚合酶。放线菌素 D 结合于 RNA 的鸟嘌呤环，阻止了 RNA 聚合酶的移动，用作抗肿瘤药物。利福平和利福霉素只抑制原核生物的 RNA 聚合酶，对真核细胞的聚合酶无作用，是选择性的抗结核菌药物。

(4) 抑制拓扑异构酶 II，阻断超螺旋结构的形成。例如新生霉素和柔红霉素结合于拓扑异构酶 II 的 B 亚基。

10.2.3.4　影响细胞结构的药物

某些细菌和真菌的胞浆膜容易受到药物的作用，例如多黏霉素(polymyxin)类抗生素作用于该环节。这类药物的结构特征是含有碱性基团的多肽与长链脂肪酸相结合，同时含有亲水和亲脂性基团，所以类似于阳离子型去垢剂。其作用机制是与膜上的磷脂结合，破坏了浆膜结构，对微生物起杀灭作用，对宿主可引起神经数、肾脏毒性和过敏性不良反应。

多烯类抗生素如制霉菌素(nystatin)和两性霉素(amphotericin)对原虫和真菌有选择性杀灭作用，而对细菌和人体细胞没有影响，这是因为原虫和真菌的浆膜中含有较多麦角甾醇，多烯类化合物容易与其发生结合，破坏了浆膜的结构。

作用于微管(microtube)和微丝(microfilament)的药物，如灰黄霉素(griseofulvin，39)可干扰真菌的有丝分裂，阻止细胞分裂时纺锤体的形成，由于破坏了微管的功能，会影响营养物经胞浆向外周的转运。秋水仙碱(colchicine)和长春碱类(vinca alkaloids)抗肿瘤药物主要是抑制细胞分裂时微管的功能，这些药物与微管蛋白(tubulin)结合，阻断微管的聚合过程，并抑制有丝分裂期纺锤体的形成，使细胞周期停止在中期(metaphase)。对微管的抑制作用也会使细胞的其他功能受到损伤。

39

10.3　肿瘤的化学治疗

10.3.1　引言

上节讨论化疗药物作用的靶标，主要涉及细菌和原核生物的药物，顺便述及的一些用于肿瘤的化疗药物，是为了系统地讨论生化反应的类型和作用环节的需要。本节集中讨论肿瘤化疗药物的作用靶标和化学特征。与细菌感染相比较，研究肿瘤的化学治疗要困难得多，这是因为微生物与人体的构造和生化过程不仅有量的差异，而且有许多质的不同。肿瘤细胞则不然，虽然肿瘤是异常的恶性细胞，但与正常细胞之间存在的可以利用的差异却有限，即或存在有区别，也只是在细胞行为上的不同，表现为：

(1) 肿瘤细胞具有非控制性增殖行为。肿瘤细胞的增殖与正常细胞的生长增殖不同，是不可控制性，正常组织和器官的生长是受控的调节过程。一些正常细胞如神经元不能分裂和增殖，而一些细胞则可连续地迅速分裂，例如骨髓细胞和胃肠道上皮细胞。有些肿瘤细胞增殖得很慢，例如浆细胞肿瘤，而有些肿瘤如伯基特淋巴瘤则很快。总之，癌细胞的增殖是异常的，它可以不分化、不衰老、不死亡地增殖。

(2) 肿瘤细胞具有浸润性。正常细胞增生、组织生长和器官发育，细胞之间的空间关系维持恒定，即使细胞的修复过程，也是如此。肿瘤组织不受控制地生长增殖，并侵袭到正常组织。例如正常的直肠黏膜上皮细胞不断地脱落和生长，数小时进行一次，却一直保持黏膜上皮细胞的形态；而直肠癌细胞的生长则会侵犯到直肠的其他细胞层，甚至其他组织。

(3) 肿瘤细胞具有迁徙性。原发性肿瘤细胞可通过血液或淋巴液到达组织的其他部位，并生长成肿瘤，这就是肿瘤转移。正常组织没有这种转移现象。

然而，肿瘤细胞的这些生物学异常性质，又是以细胞的正常生物功能为基础的，肿瘤细胞的酶系统和能量储藏形式与正常细胞基本没有区别。所以肿瘤化疗的成功关键是提高选择性问题。

10.3.2　细胞毒类抗肿瘤药物作用的一般原理

细胞毒类药物治疗肿瘤，杀伤肿瘤细胞时，不可避免地会伤害正常组织。而且，在治疗剂量下，不能全部消灭肿瘤，一般只能杀伤一定比例的瘤细胞，例如杀死 99.99%，这样高的比例对于治疗感染性疾病是非常彻底的，因为剩余的万分之一，容易被机体的免疫防御因子所消灭。但肿瘤病不同。例如含有 10^{11} 个肿瘤细胞，按照上述的比例被杀伤后，还剩余 10^7 个活的瘤细胞，机体的免疫系统不易将这些细胞消灭掉，这是恶性肿瘤难以治愈的主要原因。

肿瘤组织的细胞并非都是呈增殖状态，而是处于细胞周期的不同时相中。细胞周期是细胞在生长和分裂过程中所经历的确定的顺序阶段，每个阶段有特定的组织学和生物化学特征。图 10-12 是细胞周期的示意图。S 期是合成 DNA 阶段，大约占肿瘤细胞总数的 39%，持续时间 10~20h，然后进入 G_2 期，是为有丝分裂作物质准备的阶段，染色体呈四倍体状态，G_2 期占细胞总数的 19%，持续时间 1~3h。M 期是有丝分裂期，大约占总数的 2%，为时 1h。M 期之后是 G_1 期，此时的子代细胞大约占总数的 40%，为 DNA 合成准备必需的前体，持续时间数小时到数天。在 G_1 期中有一部分细胞进入静止状态 G_0 期，G_0 期细胞的代谢作用较低，对化疗药物不敏感。G_0 期细胞能够重新进入细胞周期中。

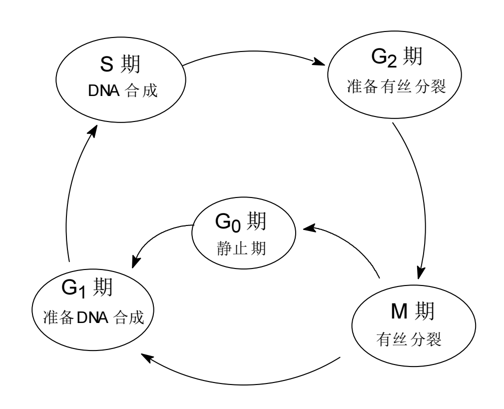


图 10-12　细胞周期示意图

大多数细胞毒药物的作用环节是细胞进行分裂的阶段，即对 M 期的抗增殖作用。同时，对于生长和增殖旺盛的正常组织也会有杀伤作用，例如引起骨髓抑制，血象异常，脱发，抑制儿童生长，生育和致畸作用等。细胞毒药物对浸润性和转移性肿瘤细胞无特异作用。

按照抗肿瘤药物的作用机制和化学作用原理，细胞毒药物可分为直接作用于 DNA 的药物，干扰 DNA 合成的药物，以有丝分裂为靶标的药物。

10.3.3　直接作用于 DNA 的抗肿瘤药物

直接作用于 DNA 并影响其功能的药物很多，且有不同的作用机制，例如药物与 DNA 发生烷化作用，生成共价键使 DNA 破坏，称作生物烷化剂；药物嵌入 DNA 碱基对中，干扰 DNA 的功能，但没有化学键的生成或断裂；另一类是兼有烷化和嵌入的药物，引起碱基顺序的错位，使 DNA 丧失功能。

10.3.3.1　生物烷化剂

用于肿瘤化疗的生物烷化剂按照化学类型可分为 6 类：氮芥类、乙烯亚胺类、甲烷磺酸酯类、亚硝脲类、三嗪和肼类。

氮芥是含有双-(2-氯乙基)胺基化合物的总称，是生物烷化剂的药效团，其作用机制已于第 4 章叙述。氮芥在体内生成乙烯亚铵离子，为强亲电性基团，可以同体内许多亲核性基团发生反应，如氨基酸的氨基、羧基、巯基、咪唑基和核酸的碱基等。最容易发生反应的部位是核酸中的鸟嘌呤 N^7 位，是因为 N^7 的电荷密度高的缘故。双功能烷化剂与 DNA 发生交叉连接，在 DNA 两链间或同链中的鸟嘌呤之间形成。DNA 交叉连接是双功能烷化剂抗肿瘤活性的主要机制。

氮芥基团与不同的化学载体相连接，不仅影响氮芥的化学性能和烷化强度，

而且赋予特定的药代动力学性质。例如美法仑(melphalan，40)是 L-苯丙氨酸氮芥，原设计意图是基于黑色素瘤需要较多的苯丙氨酸，苯丙氨酸氮芥可能提高对黑色素瘤的选择性作用，但结果并无选择性。不过由于氮原子与苯环相连，N 的未偶电子对向苯环的离域降低了氮芥基的化学反应性，因而毒性和刺激性较小，并可以口服。*N*-甲酰溶肉瘤素(氮甲，41)为我国研制的第一个抗肿瘤药，用于治疗精原细胞瘤。氨基酸、糖和甾体化合物都可以作为氮芥基团的载体，如葡磷酰胺(glufosfamide，42)治疗脑瘤和乳腺癌。苯丁氮芥(chlorambucil，43)也是常用的抗肿瘤药物。

40　　41

42　　43

环磷酰胺(cyclophosphamide，44)是临床广泛应用的抗肿瘤药，起初设计的目的是作为去甲氮芥的前药，肿瘤组织中磷酰胺酶活性高于正常组织，期望在体内经磷酰胺酶催化裂解释放出氮芥，提高选择性，降低毒性。但后来发现，环磷酰胺的活性不是经磷酰胺酶水解活化，而是经肝脏细胞色素 P450 氧化代谢而活化。关于代谢活化的过程已于第 2 章叙述。代谢生成等摩尔量的氨基磷酰氮芥和丙烯醛，前者是抗肿瘤作用的活性形式，后者对膀胱毒性显著，往往同时使用 2-巯基乙烷磺酸钠(美司钠，mesna，45)，与丙烯醛发生迈克尔加成反应，起到解毒作用。异环磷酰胺(ifosfamide，46)是将环磷酰胺的一个β-氯乙基连接在环的氮原子上，是环磷酰胺的异构体，水溶性较好，对小细胞肺癌有较好疗效。

44　　45　　46

氨基磷酰胺氮芥的 pK_a 4.75(OH 基)，在生理条件下呈离解状态，氧负离子的推电子作用使氮的孤电子对容易进攻氯乙基的β-碳，形成乙烯亚铵离子。

乙烯亚胺类的代表性药物是噻替派(thiotepa，47)，是由氮芥的活化形式乙烯亚铵离子发展起来的。乙烯亚胺基也有亲电性，但低于离子型。分子中含有两个以上的乙烯亚胺基可以同 DNA 发生交叉连接。

47

氨基磷酰胺氮芥的 pK_a 4.75(OH 基)，在生理条件下呈离解状态，氧负离子的推电子作用使氮的孤电子对容易进攻氯乙基的β-碳，形成乙烯亚铵离子。

丝裂霉素 C(mitomycin C，48)是含有乙烯亚胺基的抗肿瘤抗生素，分子中还含有两个抗癌活性基团：对醌和氨基甲酸酯。丝裂霉素 C 在体内经酶催化还原醌成氢醌，同时消去甲氧基，从而使乙烯亚胺基团和氨基甲酸酯成为强效烷化剂，与 DNA 发生交叉连接反应。此外与 DNA 结合的氢醌结构也可以氧化成自由基，引起 DNA 链的断裂，图 10-13 是丝裂霉素 C 的作用机制。

48

图 10-13　丝裂霉素 C 的作用机制

甲烷磺酸酯类的抗肿瘤作用也需要分子中含有两个烷化基团。在化学上烷基磺酸基团是较好的离去基团，生成的碳正离子可与 DNA 结合。这类药物的代表是白消安(busulphan，49)，为 1,4-双(甲烷磺酰氧)丁烷，用于治疗慢性粒细胞白血病。

亚硝脲类药物也属于抗肿瘤烷化剂，卡莫司汀(carmustine，50)和洛莫司汀(lomustine，51)已临床应用。其作用机制是在体内经非酶促裂解，生成双功能的烷化剂。在水溶液中胺基失去氢，形成不稳定的中间体，分解成 2-氯乙基偶氮氧

化物和异氰酸酯，偶氮氧化物可失水脱氮生成氯化乙烯或 2-氯乙基正碳离子，将 DNA 烷化，然后失去氯离子再与另一 DNA 发生亲核取代反应，或与蛋白质结合，生成 DNA-DNA 或 DNA-蛋白质交叉连接。异氰酸酯也具有亲电性，将体内游离氨基特别是与氨基酸残基的 ε-氨基发生氨甲酰化而失活。半胱胺亚硝脲(cystemustine，52)是卡莫司汀的一个氯乙基置换成甲磺乙基，仍保持双功能烷化作用[13]。雷莫司汀(ranimustine，53)则是用葡萄糖甲基替换氯乙基的化合物[14]，处于临床研究。

49　50　51

52　53

图 10-14 是亚硝脲类烷化作用的机制。

图 10-14　亚硝脲类烷化作用的机制

三嗪类烷化剂中有代表性的是达卡巴嗪(dacarbazine，54)，为 5-(3,3-二甲基-1-三嗪基)-1H-咪唑-4-酰胺(DTIC)，最初设计合成的目的是作为 5-氨基咪唑-4-酰胺的结构类似物，为嘌呤生物合成的中间体。后来发现达卡巴嗪并不是抗代谢物，而是有烷化作用的细胞毒活性。在体内的活化过程是：经酶促氧化，脱甲基生成单甲基化产物，后者容易分解成 5-氨基咪唑-4-酰胺和重氮甲烷或甲基偶氮氢氧化物，重氮甲烷迅速分解生成非常活泼的甲基正离子 CH_3^+，在鸟嘌呤的 N^7 处发生甲基化(图 10-15)。

达卡巴嗪

图 10-15　三嗪类药物的烷化作用机制

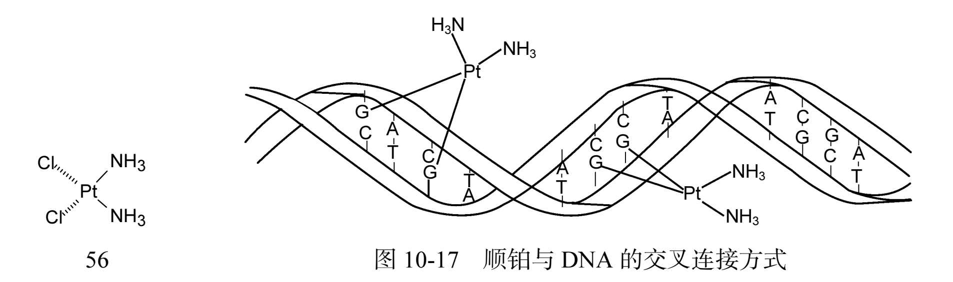
构效关系表明，其他杂环或苯环可以代替咪唑环，仍然保持活性，两个甲基被其他烷基取代时丧失活性，若只取代一个甲基，仍有活性。例如替莫唑胺(temozolomide，55)是将三嗪基稠合到咪唑杂环的并合杂环化合物，是 *N*-去甲基达卡巴嗪与咪唑氮原子经碳酰基环合而成，临床治疗人神经胶质瘤和黑素瘤[15]。

54　　　　55

10.3.3.2　铂化合物

含铂的抗肿瘤药物是配位化合物，基本结构为顺式 PtA_2X_2，式中 A 是氨或伯胺，X 为一价负性基团。两个胺或两个 X 必须处于络合平面的顺式，方有细胞毒活性。

顺铂(cisplatin，56)是第一个临床使用的铂类抗肿瘤药物，它选择性地与 DNA 中一个鸟嘌呤的 N^7 相结合，进而与同链或异链 DNA 的另一鸟嘌呤的 N^7 发生特异性结合，形成交叉连接。连接的方式如图 10-17 所示。



56

图 10-17　顺铂与 DNA 的交叉连接方式

DNA 双螺旋经铂化后，仍然保持原有的氢键，但螺旋发生扭曲，螺旋轴大约扭曲 40°~70°，DNA 的扭曲阻断了复制。

构效关系表明，铂化合物的离去基团 X 的性质决定铂化反应的速率。如果基团过于活泼，例如 NO_3^-，毒性较大，但抗肿瘤活性却很弱；而结合过紧的基团 X，如硫氰酸基也没有活性。羧酸根与二价铂配位，化学活性适度，具有抗肿瘤作用。例如卡铂(carboplatin，57)、异丙铂(iproplatin，58)和奥沙利铂(oxaliplatin，59)抗肿瘤药物，水溶性强于顺铂，对肾脏毒性较低。

57　　58　　59

反式 PtA_2X_2 也可以同 DNA 结合，但没有抗肿瘤活性。原因是反式铂络合物与 DNA 的鸟嘌呤发生双螯合后，DNA 构象变化很大，容易被修复酶识别和清除，因此一般没有活性。

然而，适宜的反式二胺铂配合物也可产生良好的抗肿瘤作用。例如奥沙利铂是草酸铂与反式环己二胺的配合物，不仅是有效的 DNA 烷化剂，而且可以逃逸细胞内的错配修复(mismatch repair，MMR)和核苷酸剪切修复(nucleotide excision repair，NER)蛋白的识别[16]。

胺或氨的性质可影响活性，氮原子上至少需要一个氢原子，胺的体积不宜太大，以利于同 DNA 发生交叉连接。

10.3.3.3　引起 DNA 降解的药物

前已述及，亚硝脲、三嗪和丝裂霉素 C 除有烷化作用外，还可使 DNA 链断裂降解。链黑霉素(streptonigrin，60)、喜树碱(camptothecin)及其衍生物拓扑替康(topotecan，61)和依利替康(irinotecan，62)以及博来霉素(bleomycin，63)等的抗肿瘤作用引起 DNA 的降解。链黑霉素的毒性较大，临床较少应用；喜树碱类药物通过抑制拓扑异构酶 I，导致 DNA 断裂；博来霉素是糖肽类抗生素，主要成分是 A2，含有数个特殊的氨基酸、二糖、氨基嘧啶、咪唑和联噻唑环。联噻唑环在肽链的 C 端，与 DNA 的小沟相结合；肽的 N 端、嘧啶和咪唑环与金属离子发生螯合作用，导致 DNA 断裂。博来霉素可与 Cu^{2+}形成稳定的螯合物，失掉抗癌活性，也不被水解酶水解。机体注射了无金属螯合的博来霉素后，在血液中与 Cu^{2+}螯合，进入细胞后，Cu^{2+}被其他蛋白结合，游离出博来霉素与其他离子如 Fe^{3+}螯合，成为活性形式。所以，与 Cu^{2+}螯合的博来霉素可视作起稳定作用的前药。

60　61　62

63

10.3.3.4　DNA 嵌合剂

与 DNA 发生嵌合(interchelation)的分子，大都是具有平面性的芳香体系。借助电荷转移或范德华作用，芳香环“挤”入双螺旋中，嵌合于碱基对嘌呤和嘧啶环之间。下面简要讨论具有抗肿瘤活性的嵌合剂(interchelating agent)，放线菌素 D 和柔红霉素。

放线菌素 D(dactinomycin，64)含有氨基苯氧嗪酮环，环上连有两个相同的五肽内酯。游离的放线菌素 D 靠两个缬氨酸残基形成的两个氢键而稳定化，当芳环嵌入 DNA 螺旋时，鸟嘌呤的 2 位氨基与苏氨酸残基的羰基氧形成氢键，加固了放线菌素 D 与 DNA 的结合。五肽片段处于 DNA 的小沟处，进而在多处形成范德华引力，增强了与 DNA 的结合。构效关系表明，*N*-甲基缬氨酸残基若失去甲基，则丧失活性，可能是甲基与脱氧核糖形成的疏水结合有重要作用。苯氧嗪酮环上氨基和醌式结构也很重要，缺少上述任何一种结构因素都会失去活性。嵌合后的醌式亚胺结构可被酶促还原形成自由基，引起 DNA 链的断裂和染色体损伤。

64

柔红霉素(daunorubicin，65)、多柔比星(doxorubicin，66)和表柔比星(epirubicin，67)是含有氨基糖苷的蒽醌类抗癌抗生素。柔红霉素和多柔比星的结构很相似，区别在于9位侧链的不同，柔红霉素是甲基，多柔比星是羟甲基。蒽醌环嵌入到DNA，每 6 个碱基对嵌合 2 个蒽醌环。蒽醌环的长轴与碱基对的氢键呈垂直取向，氨基糖位于 DNA 小沟处，而 D 环插到大沟部位。由于这种嵌入作用，使碱基对之间的距离由原来的 3.4 Å 增至 6.8 Å，以致需要调整磷酸糖酯骨架的扭角以平衡这种变化，因而引起 DNA 的裂解。

化合物	R_1	R_2	R_3	R_4
65	OCH_3	H	OH	OH
66	OCH_3	H	OH	H
67	OCH_3	OH	H	OH

表柔比星是多柔比星在糖的 4′位羟基差向异构体，临床上广泛用于治疗实体瘤。其主要不良反应是心脏毒性，可能是醌被还原成半醌自由基，诱发了脂质过氧化反应，导致心肌损伤。

10.3.4　干扰 DNA 合成的抗肿瘤药物

参与 DNA 合成过程的许多酶系都可能作为抗肿瘤药物的作用靶标，研制这些药物的先导物大都模拟酶的底物，底物的类似物占据或结合于酶的活性中心，抑制了酶的功能，这类药物也常称作抗代谢物(antimetabolites)。

10.3.4.1　叶酸类似物

前已述及，叶酸作为辅酶是参与一碳单元的转移反应，是嘌呤类碱基 *de novo* 合成的必要辅因子。为此，需经二氢叶酸还原酶催化还原成 *N*-甲酰四氢叶酸。抗叶酸类药物是二氢叶酸还原酶抑制剂，有代表性的药物是甲氨蝶呤(methotrexate，68)，对二氢叶酸还原酶的结合常数 K_i=0.01~0.2 nmol/L，远远强于底物(二氢叶酸)

的 K_m 值。甲氨蝶呤为极性分子，是经转运蛋白主动转运进入细胞内的，进而在细胞内被多谷氨酸化，成为活化形式，抑制二氢叶酸还原酶，因而阻止二氢叶酸还原成四氢叶酸，减少四氢叶酸的供给，降低了胸苷酸合成酶合成胸苷酸的能力。图 10-18 是甲氨蝶呤的转运、活化和抑制作用的示意图。

图 10-18　甲氨蝶呤的转运、活化和抑制作用的示意图

依达曲沙(edatrexate，69)是甲氨蝶呤的电子等排体，将蝶啶环与苯环之间的 C—N 置换为 C—C 等排体[17]，临床治疗肺癌。

曲美沙特(trimetrexate，70)为脂溶性二氢叶酸还原酶抑制剂，结构中没有谷氨酸片段，虽然有抗肿瘤作用但临床主要治疗艾滋病患者并发的肺炎症[18]。这也说明二氢叶酸还原酶作为抗菌和抗癌靶标，没有严格的界限。

68　　69

70

10.3.4.2　嘧啶类似物

体内胸腺嘧啶是由尿嘧啶和四氢叶酸在胸苷酸合成酶催化下合成的，模拟底物尿嘧啶或产物胸腺嘧啶的结构可抑制该酶的活性，这类抗代谢物也是基于电子等排原理设计的。尿嘧啶的 5 位是该生化反应位点，5 位氢原子被原子尺寸相近的氟置换，为氟尿嘧啶(5-fluorouracil，5-FU，71)，在 5,10-亚甲基四氢叶酸的存在下，5-FU 结合在酶的活性中心，使酶失活。氟尿苷(floxuridine，72) 是 5-FU 的脱氧核苷，在体内 5′-羟基磷酸化成活性代谢物。

脱氧尿苷的 5 位被溴或碘代，例如碘苷(idoxuridine，73)其原子尺寸与胸腺嘧啶的甲基相近，因而是胸腺嘧啶的抗代谢物，参入 DNA 中替代了胸苷酸。虽有抗肿瘤作用，但主要用作抗单纯疱疹病毒感染。

71　　72　　73

卡培他滨(capecitabine，74)的化学结构与 5-FU 差别较大，但仍属 5-FU 的类似物，临床用于治疗结肠癌和乳腺癌。口服卡培他滨后，在体内经酯酶水解成转变成 5′-脱氧-5-氟胞苷，再经胞苷脱氨酶的作用生成 5′-脱氧-氟尿苷，然后被胸苷磷酸酶裂解掉糖基，在细胞内释放出 5-FU。所以，具有高活性胸苷磷酸酶的肿瘤对卡培他滨会更加敏感。卡培他滨可认为是 5-FU 的前药。

酯酶　胞苷脱氨酶　胸苷磷酸酶

74

另一类嘧啶抗代谢物是胞苷类似物，其中阿糖胞苷(cytarabine，AraC，75)是胞嘧啶与阿拉伯糖形成的糖苷，阿拉伯糖的 2′-羟基处于β-键，因而阿糖胞苷犹如 2′-脱氧核糖糖苷，可被酶促磷酸化成三磷酸阿糖胞苷，后者与 dCTP 竞争参入 DNA 中，阻断了 DNA 链的延长及其功能。阿糖胞苷治疗淋巴细胞白血病和淋巴瘤。2′,2′-二氟脱氧胞嘧啶核苷即吉西他滨(gemcitabine，76)，也可视作脱氧胞苷的电子等排体[19]，经磷酸化参入 DNA 中阻断 DNA 合成和链的延长。吉西他滨用于治疗实体瘤如膀胱癌、脑瘤和乳腺癌等。在碱基部分作电子等排的成功药物三嗪类药物是氮胞苷(azacytidine，77)和地西他滨(decitabine，78) [20]。

75　　76　　77　　78

10.3.4.3　嘌呤类似物

以嘌呤碱基、嘌呤核苷和嘌呤核苷酸等天然配体为先导物研发嘌呤类抗肿瘤药物，其生化依据是，动物体内含有核苷激酶，可催化腺苷、2′-脱氧鸟苷、2′-脱氧次黄嘌呤(hypoxathine)核苷等转变为相应的 5′-一磷酸核苷，但激酶不能将肌苷(inosine)和鸟苷一磷酸化，但肌苷和鸟苷一定会发生磷酸分解作用(phosphorolysis)，生成游离的嘌呤碱基，游离碱基经次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT)作用生成相应的核苷酸。

基于电子等排原理模拟嘌呤的类似物是 HGPRT 的良好底物，例如抗白血病药物巯嘌呤(mercaptopurine，79)和硫鸟嘌呤(thioguanine，80)分别是次黄嘌呤和鸟嘌呤的等排体，在体内转变为相应的核苷酸 6-硫代 GMP 和 6-硫代 IMP，但这两个产物不是鸟苷激酶的底物，因而在细胞内聚集，从而抑制了其他重要的代谢反应，细胞生长受到抑制。巯基嘌呤在体内发生 *S*-甲基化或非酶氧化而代谢失活，为增加代谢稳定性，在 6 位巯基引入硝基咪唑片段成为硫唑嘌呤(azathioprine，81)，后者可与谷胱甘肽的巯基反应，在组织内逐渐生成游离的巯基嘌呤，所以硫唑嘌呤是前药。硫唑嘌呤现用作免疫抑制剂。腺苷的核糖用阿拉伯糖代替，成为抗代谢物阿糖腺苷(vidarabine，82)，临床主要用作抗乙肝病毒药物。克罗拉滨(clofarabine，83)是 2-氯-2′-氟脱氧腺苷，为 DNA 聚合酶和二磷酸核苷还原酶抑制剂[21]，用于治疗淋巴白血病。

79　80　81　82　83

喷司他汀(pentostatin，84) 又称 2′-脱氧助间型霉素(2′-deoxycoformycin)，作为嘌呤核苷的类似物在药物化学上有一定的地位，它是链霉菌产生的天然抗生素，具有抑制腺苷脱氨酶的活性[22]。喷司他汀在结构上模拟了腺苷(85)的 6 位氨基脱氨反应的过渡态，所以是过渡态类似物，它对腺苷脱氨酶的亲和力(K_i 值)强于底物腺苷(K_i 值)107 倍，可与腺苷脱氨酶形成稳定的复合物，因而是强效抑制剂，临床用于治疗非何杰金氏淋巴瘤和胰腺癌。关于喷司他汀的作用机制可参见第 7 章酶抑制剂(第 271 页)。

84　　85

10.3.5　作用于有丝分裂环节的抗肿瘤药物

药物干扰细胞周期的有丝分裂阶段(M 期)，可抑制细胞的分裂与增殖。在有丝分裂中期(metaphase)，纺锤体形成微管(micrrotubule)。微管是细胞内的丝状结构，直径约 300 Å，是由中空的管状蛋白构成，称作微管蛋白(tubulin)。微管蛋白有两个亚基α和β，每个亚基的分子质量约为 5000 Da。微管蛋白除在有丝分裂中起作用外，还有多种功能，例如维持细胞的形态，固定细胞器的位置，参与细胞器的位移和细胞内物质的运输等。

有丝分裂抑制剂与微管蛋白有很强的亲和力，呈特异性结合，抑制微管的聚合过程。例如秋水仙碱(colchicines，86)和依托泊酯(etoposide，87)与微管蛋白的同一位点结合；长春碱(vinblastine，88)和美登素(maytansine)与微管蛋白的两个位点相结合。

86　　87

长春碱与长春新碱(vincristine)是存在于长春花(*Vinca rosa* L)中的天然生物碱，分别治疗实体瘤和急性白血病。两个药物的主要不良反应是神经毒性。半合成长春生物碱长春瑞滨(vinorelbine，89)，为脱水失碳长春碱[23]，对实体瘤的作用强于天然生物碱，用于治疗小细胞肺癌。

88　　89

紫杉醇(paclitaxel，90)是从红豆杉(*Taxus brevifolia*)中分离的二萜类化合物，分子为 6-8-6-4 稠合骨架连接特定的功能基团，成为促进微管聚合、抑制微管解聚的抗微管药物，这与上述的秋水仙碱的作用机制不同。氧杂环丁烷和 13 位的侧链是不可缺少的药效团。为提高紫杉醇的水溶性，由 10-去乙酰巴卡亭 III (10-deacetylbaccatin III)合成得到的多西他赛(docetaxel，91) [24]活性和安全性优于紫杉醇。

90　　91

伊泊西龙 B(epothilone B，92)是由 *Myxobacterium sorangium cellulosum.*产生的抗癌抗生素，作用靶标与紫杉烷类药物相似，可将微管稳定化，使肿瘤细胞停止分裂并导致凋亡。依泊西龙 B 为大环内酯，与微管蛋白的结合特点与紫杉烷不同，因而无交叉耐药现象。然而依泊西龙 B 的代谢稳定性低，药代动力学有缺陷。依沙匹龙(ixabepilone，93)是半合成的类似物，用酰胺键代替了依泊西龙 B 的内酯键，药代的多种性质得到了改善[25]，临床用于治疗乳腺癌。

92　　93

10.3.6 阻遏和调控信号转导的抗肿瘤药物

10.3.6.1 细胞信号转导的一般概念

调节细胞生长、增殖、分化和凋亡等一系列基本生命活动的细胞信号转导是生命科学研究的重要领域，信号转导失调造成细胞增殖和凋亡的不平衡，导致癌症等重大疾病的发生，细胞癌变的本质是细胞信号转导的失调。细胞信号转导分子是寻找新型抗肿瘤药物的重要靶标。

细胞信号转导是个复杂的通路网络系统，大体过程是细胞外的信号分子，例如可溶性分子、细胞表面分子或组织基质分子等，与靶细胞受体的跨膜蛋白如表皮生长因子受体(EGFR)或整合素(integrin)的膜外部分相结合，引起跨膜蛋白的构象变化，靶细胞受体的胞内部分发生化学变化，如磷酸化或形成二聚体，导致靶细胞内信号转导分子化学变化与激活，例如磷酸化、去磷酸化或聚合体的形成等，经过一系列级联反应，被激活的信号转导分子进入细胞核内，作用于基因转录调控区，使基因表达发生改变，从而导致细胞表型的改变。

细胞外的信号分子有 5 类：

(1) 生长因子：包括有表皮生长因子(epidermal growth factor，EGF)、血小板来源的生长因子(platelet-derived growth factor，PDGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor，IGF)、神经生长因子(nerve growth factor，NGF)、β-转化生长因子(transforming growth factor-β，TGF-β)、红细胞生成素(erythropoietin，EPO)和血小板生成素(thrombopoietin，TPO)等；

(2) 细胞因子(cytokines)：包括有 α-干扰素(interferon-α，IFN-α)、γ-干扰素(interferon-γ，IFN-γ)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor，TNF)和白细胞介素 1，2，3，… (interleukins)等；

(3) 黏附分子(adhesion molecules)：包括有钙黏蛋白(cadherins)和植物凝集素adhesin)等；

(4) 激素：例如胰岛素；

(5) 死亡分子(death molecules)： 例如细胞程序化死亡分子(programmed cell death，PDCD)，Fas 等。

信号转导过程中发生的生物化学反应包括有磷酸化反应，是经酪氨酸激酶或丝/苏氨酸激酶催化，使酪氨酸、丝氨酸/苏氨酸残基的羟基磷酸化，导致蛋白质构象的改变；去磷酸化反应是由磷酸酶催化，是上述反应的逆过程；还有受体或其他信号转导分子的聚合化。

当前研究较多的药物靶分子主要有蛋白酪氨酸激酶、蛋白激酶 C、磷脂酰肌

醇激酶、丝裂原活化蛋白激酶、法呢基转移酶、细胞周期调控因子和核转录因子 NF-κB 等。

10.3.6.2　酪氨酸蛋白激酶抑制剂

大多数生长因子的受体都含有定位于细胞内的酪氨酸激酶的功能区域和胞外区。表皮细胞生长因子(EGF)影响细胞的功能通过如下机制：配体 EGF 与受体胞外区结合，诱导蛋白的构象变化，致使 EGF 受体二聚化，并促使细胞内的酪氨酸蛋白激酶区构象改变，发生自磷酸化，使激酶的酪氨酸残基磷酸化。所以，酶的活性中心有三磷酸腺苷(ATP)的参与，活性部位有 ATP 结合位点。

酪氨酸蛋白激酶在许多人肿瘤组织中过度表达，证实与肿瘤生长有密切关系。例如 EGFR 作为抗肿瘤药物的靶标，在人非小细胞肺癌和头颈部肿瘤中有过度表达。因此抑制酪氨酸蛋白激酶是抗癌药物的一个重要靶标。这里主要的问题是选择性作用，即将正常组织与癌组织区分开来。天然物质槲皮素(quercetin，94)和染料木黄素(genistein，95)可抑制酪氨酸激酶，但选择性和活性不高。微生物代谢产物 erbstatin(96)是强效抑制剂[26]。含有氰乙烯苯酚结构的酪磷抑素(tyrphostin，97)类化合物，对酪氨酸基有强效抑制作用，而且有抗动物肿瘤的效果[27]。

94　95　96　97

临床应用的 EGFR 受体酪氨酸蛋白激酶抑制剂有埃罗替尼(erlotinib，98)、吉非替尼(gefitinib，99)和拉帕替尼[28] (lapatinib，100)，用于治疗非小细胞肺癌和乳腺癌。分子模拟方法研究埃罗替尼和酪氨酸激酶的 ATP 结合域的相互作用，表明 1 位 N 原子和 MET769 的 NH 形成氢键，距离 1.7Å；3 位 N 能够和结构水形成氢键，距离 1.8Å；该结构水的氧同时和 THR766 的羟基氢形成氢键，距离为 2.2Å；4-取代的苯胺基周围为疏水性氨基酸残基；6 和 7 位的侧链处于酶的开口处，未与酶表面接触。图 10-19 是埃罗替尼与酶活性中心的结合特征。这三个“替尼”类药物的结构具有相同的药效团分布，6 和 7 位的侧链均有亲水性基团，是调整物化性质并影响药代的片段，由于不与酶表面结合，可允许有较大的变化。

98　　　　99

100

图 10-19　埃罗替尼与 EGFR 酪氨酸激酶域的结合特征

伊马替尼(imatinib，101) [29]是 2-苯胺基嘧啶类化合物，为多种酪氨酸激酶的特异性抑制剂，包括胰岛素样生长因子受体、abl (Abelson proto-oncogene)，c-kit 和 PDGFR 等。伊马替尼占据这些激酶的活性中心具有结合 ATP 的位点，竞争性地抑制激酶的活性[30]。由于对 BCR-ABL 激酶有强效的抑制作用，而 BCR-ABL 又是慢性髓细胞白血病(CML)的主要病因，伊马替尼是治疗 CML 的特异性药物。

101

10.3.6.3　法呢基蛋白转移酶抑制剂

Ras 蛋白在信号转导、细胞增殖和恶性转化方面起着主要作用，人类的许多癌症都常见有 *ras* 基因突变，其表达产物 Ras 蛋白对来自表皮因子和血小板源性生长因子的信号，以结合 GTP 的形式，通过一系列信号转导引起细胞分裂。当 GTP 水解成 GDP 时，信号终止。*ras* 基因一旦发生突变，Ras 蛋白始终为结合 GTP 形式，则连续的生长信号导致细胞的恶性增殖，造成生物组织的癌变。

Ras 蛋白在转导信号时，必须锚合在细胞膜内侧以进行信号交换，这一锚合

的关键步骤是在法呢基蛋白转移酶(Farnesyl protein transferase，FTase)的催化下，Ras 蛋白的羧基端 CAAX(CAAX 的组成中 C 为半胱氨酸，A 为疏水性氨基酸，X 为甲硫氨酸或丝氨酸)的巯基被法呢基化。因此，若能够抑制 FTase 活性，阻止 Ras 蛋白的 CAAX 法呢基化，则可抑制肿瘤的生长，因此法呢基蛋白转移酶是抗癌药物的一个靶点(图 10-20)。

CAAX　　焦磷酸法尼醇　　法尼基化 CAAX

图 10-20　法呢基蛋白转移酶的催化机制

含咪唑基的哌嗪化合物(102)具有较强的抑制活性[31]，将哌嗪环融合成苯并二氮䓬得到的化合物 BMS-214662[32] (103)，IC_{50}=24 nmol/L，已进入临床研究。另一个候选药物 tipifarnib[33] (104)不仅用于治疗急性髓细胞白血病，而且还可抑制锥虫甾醇 14-去甲基化酶，成为研制抗锥虫药物的先导物。

102　　103　　104

10.3.6.4　周期素依赖性激酶抑制剂

周期素依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinase，CDK) 和周期素(cyclin)在调控细胞周期机制起重要作用，不同的 CDK 与周期素结合，驱使细胞周期的某个时相启动并运行。肿瘤细胞周期的失控，通过抑制 CDK 可调整细胞周期，使之回复到正常水平。

蛋白激酶 C(protein kinase C，PKC)是生长因子信号转导的另一个成分，属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，二乙酰甘油可激活该酶，并发现在许多癌基因转化的细胞中，二乙酰甘油水平增高，而且蛋白激酶 C 是佛波酯的受体。天然产物星孢菌素(staurosporine，105)是 PKC 的强效抑制剂，它的衍生物 UCN-01(106)为蛋白激酶 C 选择性抑制剂，是新一代抗肿瘤药物[34]。

105　　106

嘌呤类化合物 seliciclib(107)可抑制多种肿瘤的蛋白的磷酸化，降低细胞内周期素 D_1 的水平，下调肿瘤细胞中抗凋亡蛋白的表达，从而诱导细胞凋亡，临床用于治疗乳腺癌和肺癌[35]。Seliciclib 的嘌呤环变换成电子等排体吡唑并嘧啶化合物(108)，未改变药效团的配置，仍是 CDK 激酶的强效抑制剂[36]。

Alvocidib(109)又称夫拉平度(flavopiridol)，为含哌啶的黄酮化合物，抑制乳腺癌和肺癌血管的酪氨酸激酶和丝/苏氨酸激酶，引起细胞凋亡，其活性强于槲皮素和染料木黄素[37]。

107　　108　　109

10.3.7　血管生成抑制剂

上述的靶标都是干预肿瘤细胞生长的各个环节，各种药物抑制肿瘤细胞的增殖和生长。另一个重要环节是抑制肿瘤血管生成，使肿瘤组织不能生成血管，无法供给营养物而不能生长。在正常情况下，成年人的血管生成作用是局部和短暂的过程，因为血管生成和血管抑制因子处于动态平衡之中。但肿瘤组织为了生长需要血液和营养供应，需要生成新的血管，因而打破了这种平衡。抑制血管生成对于治疗实体瘤有重要意义。

舒尼替尼(sunitinib，110)是血管表皮生长因子受体(VEGFR)和血小板来源的生长因子受体(PDGFR)激酶的双重抑制剂[38]，由于抑制了酪氨酸残基的磷酸化和细胞增殖，可抑制多种实体瘤的血管生成。烟曲霉素(fumagillin，111)起初发现具有抗真菌作用，后来证明也抑制甲硫氨酸氨基肽酶(MetAP-2)，从而对细胞生长产生

选择性抑制作用，使细胞周期停止在 G_1 期[39]。沙利度胺(thalidomide，112)虽然最初因严重致畸而停止临床应用，但后来发现 *S* 构型并不致畸，且有多种药理作用，如免疫调节作用，抗炎作用是由于抑制肿瘤坏死因子α (TNF-α)的生成，抗癌活性表现在抑制血管生成作用，*S*-沙利度胺已在临床复出。其衍生物来那度胺[40] (lenamidomide，113) 的免疫调节、抗炎和抑制血管生成作用强于沙利度胺，已批准上市。

110　　111　　112　　113

10.4　抗病毒药物

10.4.1　引言

病毒是最小的微生物，寄生在细胞或亚细胞结构中，直径大约为 0.02~0.4μm。病毒是由核衣壳(capsid)包裹基因组构成，基因组可为 DNA 或 RNA，呈单链、双链或多链形式存在。病毒作为有生命的颗粒，没有完整的酶系统和线粒体等细胞器，本身缺乏代谢机制，通过利用宿主的核酸和酶系统提供自身繁殖的物质和能源，因此病毒的复制周期与宿主细胞代谢密切相关。

病毒的感染是个复杂过程，它在感染宿主细胞时，首先通过静电引力吸附在细胞表面上，当穿入细胞时将核衣壳留在细胞外，只有核酸进入细胞中。在宿主和病毒自身酶的共同作用下，病毒核酸在细胞中复制，产生病毒蛋白，进而整合成病毒颗粒，然后释放到细胞外。

由于病毒是寄生在胞内的病原体，它的复制取决于宿主细胞的代谢过程。这使得病毒与宿主有密切的联系，也给研制抗病毒药物带来困难。理想的抗病毒药物应只干扰病毒的复制，而不影响宿主的正常代谢，但这是很难达到的。现用的许多抗病毒药物有不同程度的细胞毒性，而且抗病毒谱不广，这就是抗病毒药物进展较抗菌药物缓慢的原因。表 10-3 列出了病毒复制的各个阶段和相应的抗病毒的靶标[41]。

表 10-3 病毒复制的各个阶段和相应的抗病毒药物的靶标

阶段	过程	作用靶标
病毒进入细胞	结合	可溶性受体 decoy；抗受体抗体
	融合	离子通道阻断剂；核衣壳稳定剂；融合抑制剂
脱壳	释放病毒遗传物质	
病毒基因的转录	病毒信使 RNA 的转录 病毒基因的复制	病毒 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶、逆转录酶、解旋酶、引发酶和整合酶抑制剂
病毒核酸的翻译	调控蛋白和结构蛋白	干扰素；反义寡核苷酸；调控蛋白抑制剂
翻译后的修饰	蛋白水解性裂解	蛋白酶抑制剂
	十四烷酰化，糖苷化	
病毒粒的组装		干扰素；组装蛋白抑制剂
病毒的释放	出芽，细胞溶解	神经氨酸酶抑制剂；抗病毒抗体；细胞毒性淋巴细胞

10.4.2 抑制病毒复制的药物

10.4.2.1 金刚烷胺类

金刚烷胺(adamantane，114)和金刚乙胺(rimantadine，115)是流感病毒 M2 抑制剂，M2 蛋白是流感病毒的一种结构蛋白，为 ATP 依赖性 H^+通道，参与流感病毒在宿主细胞与内含体膜融合的过程。金刚烷胺或金刚乙胺可直接结合在 M2 蛋白上，从而抑制流感病毒的脱壳过程，导致遗传物质不能释放到胞浆中。

金刚烷胺最早用于治疗帕金森病，易于穿越血脑屏障，所以作为治疗流感病，具有中枢神经的副作用。金刚乙胺的中枢作用较弱。曲金刚胺(tromantadine，116)的抗病毒谱广于金刚烷胺。金刚烷胺类主要用于预防和治疗 A 型流感病毒的早期感染。

NH_2 $H_3C-C(H)-NH_2$ H–N–C(=O)–CH₂–O–CH₂CH₂–N(CH₃)CH₃

114   115   116

10.4.2.2　干扰素和干扰素诱导剂

当病毒侵入细胞后，细胞产生干扰素(interferon)，以保护自身免于进一步受侵袭。实验动物用干扰素，可抑制病毒的生长和复制并有细胞免疫调节作用，所以，干扰素可视作天然的抗病毒因子。干扰素为一类糖蛋白，相对分子质量20000~160000，有很强的种属特异性，人干扰素分三型，即α-、β-和γ-干扰素，分别由人白细胞、成纤维细胞和 T 淋巴细胞分泌，α-干扰素具有广谱抗病毒作用，在较低浓度下即呈现活性。

干扰素诱导剂(interferon inducer)可以是聚合物或有机小分子，注入体内可诱导细胞产生干扰素，例如多聚-(肌苷酸-胞苷酸)(poly I:C)和用聚赖氨酸与羧甲基纤维素稳定化的聚-(肌苷酸-胞苷酸)(poly ICLC)[42]。其他处于研究阶段的小分子诱导剂 cridanimod[43](117)，8-羟基-9-取代苄基腺嘌呤(118)[44]，以及咪唑并喹啉胺类化合物 S-28828(119)[45]等。

117　　118　　119

10.4.3　影响病毒核酸复制的药物

病毒在被感染的细胞中将遗传物质释放到胞浆中，以 DNA 或 RNA 作为模板，在聚合酶的催化下合成新的病毒基因组。催化合成该复制过程的酶系称作聚合酶，包括 DNA 聚合酶和(或)RNA 聚合酶。抑制聚合酶的药物分核苷类和非核苷类两种。

10.4.3.1　核苷类

齐多夫定(zidovudine，AZT，120)为 3′-叠氮-2′,3′-二脱氧胸苷，是胸苷类似物，为核苷类逆转录酶(reverse transcriptase，RT)抑制剂。人免疫缺陷 I 型病毒(HIV-I)是艾滋病的感染源，属于 RNA 逆转录病毒。齐多夫定进入 HIV 感染的细胞后，依次被宿主细胞中的胸苷激酶、胸苷酸激酶和核苷二磷酸激酶磷酰化，生成的三磷酸齐多夫定(AZTTP)为活化形式，竞争性地抑制病毒逆转录酶对三磷酸胸苷的利用，而且还参入病毒的 DNA 链中，使病毒 DNA 链停止增长，阻断了病毒的繁殖。AZTTP 对病毒逆转录酶的亲和力百倍强于对正常细胞 DNA 聚合酶的结合，

因此是具有选择性的抗病毒药物，齐多夫定用于治疗 I 和 II 型人免疫缺陷病毒和 EB 病毒感染。

120　　　　活化形式

扎西他滨[46] (zalcitabine，ddC，121)和司他夫定[47] (stavudine，d4T，122)分别是 2′,3′-二脱氧胞苷和脱氧脱水胸苷，其作用机理与齐多夫定相同，在细胞内被三磷酸化，竞争性地抑制 HIV 逆转录酶，并中止病毒 DNA 链延长，临床上治疗艾滋病。

拉米夫定(lamivudine，123)为硫杂脱氧胞苷化合物，分子中含有两个手性碳原子，(–)和(+)对映体都有抗 HIV 和 HBV 活性，但(-)-2*R*,5*S*-异构体有较弱的细胞毒作用，对病毒的选择性作用较好，因此作为优映体在临床应用，治疗艾滋病和乙型肝炎，然而，HIV 和乙肝病毒对拉米夫定容易产生耐药性。恩曲他滨(emtricitabine，124)为 5-氟代拉米夫定，也是 HIV 和 HBV 逆转录酶抑制剂[48]。

121　　122　　123　　124

另一类干扰病毒核酸复制的药物是嘌呤类核苷。阿糖腺苷(vidarabine)是链霉菌 *Streptomyces antibioticus* 次级代谢产物，其抗病毒活性形式也是经细胞内三磷酸化，抑制 DNA 聚合酶和 DNA 病毒。阿糖腺苷还抑制 *S*-腺苷高半胱氨酸水解酶的活性，使 *S*-腺苷高半胱氨酸蓄积，因而是转甲基化反应的抑制剂。阿糖腺苷用于治疗单纯疱疹病毒感染。其缺点是在体内被腺苷脱氨酶催化脱氨，生成阿糖次黄嘌呤而失去活性。

阿昔洛韦(acyclovir，125)是鸟嘌呤与含羟基侧链形成的“苷”，可视作糖环失去 C2′和 C3′的核苷，故又称无环鸟苷。由于抑制胸苷激酶和 DNA 聚合酶，阻止了病毒感染细胞中的 DNA 合成，但不影响正常细胞的生长，因此是个较好的广谱抗病毒药物。阿昔洛韦与前述的核苷类抗病毒药物的作用机制相似，在细胞内

羟基经三磷酸化而活化起效。更昔洛韦(ganciclovir，126)、喷昔洛韦(penciclovir，127)和法昔洛韦(famciclovir，128)是阿昔洛韦的类似物，均须在体内活化成三磷酸酯。法昔洛韦是喷昔洛韦的前药。恩替卡韦(entecavir，129)是由“洛韦”演化出的碳环核糖鸟苷，对 HBV 病毒有强效的抑制活性，临床用于治疗 HIV 和 HBV 感染[49]。

125　126　127　128　129

阿德弗韦(adefovir，130)是腺苷的类似物[50]，为了有利于在细胞内的三磷酸活化，在分子中“预组装”一个有机膦酸基，对 HIV 和 HBV 逆转录酶有强效抑制作用。但由于膦酸基含有两个酸基，在体内 pH 条件下呈负电荷存在，不利于吸收与过膜分布。阿德弗韦酯(adefovir dipivoxil，131)是阿德弗韦的前药，是与两个新戊酸形成的水合甲醛四酯，由于掩盖了负电荷成为中性分子，改善了吸收性，因而提高了生物利用度[51]。阿德弗韦和阿德弗韦酯与拉米夫定无交叉耐药性，对拉米夫定耐药的病毒仍有抑制活性。

130　131　132

Pradefovir(132)是阿德弗韦的另一种前药，阿德弗韦酯是通过非特异的酯酶或化学水解而活化，pradefovir 则是经肝脏细胞色素 P450 氧化代谢而活化，由于在肝脏释放出阿德弗韦，进而磷酸化成活性形式。这种前药的优点是化学上比较稳定，因此在其他组织中无活性，当特异性地在肝脏中活化后，可“就地”呈现抑制作用，且含有磷酸基的负电荷，不易逃逸出肝细胞内，进而被激酶催化三磷酸化，成为活化形式[52]。Pradefovir 的活化机制如图 10-21 所示。

图 10-21　Pradefovir 被 P450 代谢活化的机制

10.4.3.2　非核苷类逆转录酶抑制剂

HIV 非核苷类逆转录酶抑制剂的结构特征与作用机制与核苷类抑制剂不同，它们有多样性的化学结构，无需经磷酸化成活化形式，所以无论在细胞内或在血浆中都可抑制逆转录酶。非核苷类逆转录酶抑制剂结合的位点是距离逆转录酶 p66 和 p55 两个亚基交界处的变构区域，而不是天然底物的结合位点，变构位点距离催化中心大约 10 Å，在抑制剂的诱导下，进入由多个疏水性氨基酸残基构成的疏水性结合腔中，使逆转录酶的构象发生改变，导致底物无法与之结合，从而使酶丧失正常功能。

HIV 逆转录酶与非核苷类抑制剂复合物的晶体结构表明，抑制剂的构象成蝴蝶形状，“双翅”为两个π电子体系，中间为亲脂性片段。图 10-22 是 HIV- I 逆转录酶抑制剂的作用位点示意图，黑色区域为核苷类抑制剂作用位点，灰色区域为非核苷类抑制剂的作用位点。



图 10-22　HIV- I 逆转录酶抑制剂的作用位点示意图

奈韦拉平(nevirapine，133)为二吡啶并二氮䓬酮化合物，对逆转录酶的抑制与核苷类无竞争性作用，说明结合的位点与核苷类不同，与 HIV 逆转录酶复合物的晶体结构也证明了这一点[53,54]。BILR-355(134)是从奈韦拉平衍化的类似物，环上引入极性侧链，改善了物化和药代性质，并对 HIV 耐药株有抑制活性[55]。

133　　134

地拉韦啶(delavirdine，135)为二芳杂环取代的哌嗪(BHAP)化合物，哌嗪环可视作"蝴蝶"的躯干，吲哚和吡啶环为两翼，结合于逆转录酶的变构区域，对 HIV-I 有选择性抑制活性，已于临床应用[56]。另一个 BHAP 药物阿替韦啶(atevirdine，136)，为地拉韦啶电子等排物，结构骨架未变，现处于临床研究[57] 。

135　　136

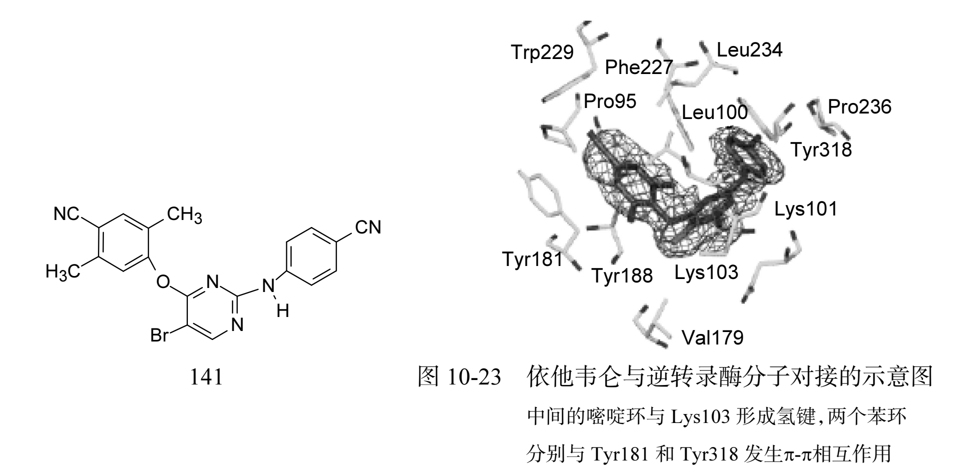
依法韦仑(efavirenz，137) [58]为已上市的喹喔啉酮类药物，对单变异病毒有抑制活性，而其类似物喹唑啉酮 DPC-083(138)，对于单变异或双变异病毒株的抑制活性可达纳摩尔水平，强于依法韦仑 10~20 倍，并改善了药代动力学性质，现处于临床研究阶段[59]。

137　　138

乙米韦林(emivirine，139)是从羟乙基苯硫胸腺嘧啶(HEPT)化合物 TKN-6123(140)衍化来的抑制剂，它们结构虽类似于核苷，但与核苷类抑制剂对逆转录酶的结合没有竞争作用，这是因为作用于酶的变构区的疏水腔内。由于乙米韦林在变构区内与其他的非核苷类药物的构象和取向不同，决定了乙米韦林没有交叉耐药现象，此外也有良好的药代动力学性质。乙米韦林有望成为新的治疗药物[60,61]。

139　　　　140

依他韦仑(etravirine，141)为二芳基嘧啶类化合物[62]，是由二芳基三嗪衍变而来，其结构特征是在与变构区诱导契合时，与 Lys103Asn (变异)、Tyr181 和 Tyr318 发生氢键和π-π相互作用，因而有强力的结合，且对变异株也有强效抑制作用。图 10-23 是依他韦仑与逆转录酶分子对接的示意图[63]。



141

图 10-23　依他韦仑与逆转录酶分子对接的示意图
中间的嘧啶环与 Lys103 形成氢键，两个苯环分别与 Tyr181 和 Tyr318 发生π-π相互作用

10.4.4　影响核糖体作用的药物

信使 RNA 将 DNA 的遗传信息带到核糖体处，在核糖体翻译并合成蛋白质，所以影响核糖体的药物可阻断病毒蛋白质的合成，抑制病毒的成熟和感染。美替沙腙(methisazone，142)为 *N*-甲基靛红缩氨基硫脲，可抑制痘病毒以及一些 RNA 病毒如流感病毒、脊髓灰白质炎病毒等。酞丁安(ftibamzone，143)为我国研制的双缩氨基硫脲抗病毒药物，对沙眼衣原体和单纯疱疹病毒有强效抑制作用，临床治疗沙眼、带状疱疹和尖锐湿疣。

142　　　　143

10.4.5　蛋白酶抑制剂

10.4.5.1　HIV 蛋白酶抑制剂

人免疫缺陷病毒复制过程中一个重要酶系是蛋白酶(HIV-PR)，属于天冬氨酸蛋白酶，其功能是将 *gag-pol* 基因表达的前体蛋白加以切割，转变成有活性的病毒蛋白，抑制 HIV 蛋白酶可阻止病毒蛋白的成熟，因而是抗艾滋病毒的靶标。HIV-PR 为含有 99 个氨基酸残基的同二聚体，其中 Asp25 和 Asp25′的羧基参与底物蛋白肽键的裂解过程。在催化过程中，作为底物的多聚蛋白与 HIV-PR 的 Gly27 和 Gly27′的羰基形成氢键，Ile50 和 Ile50′与结构水的氧原子形成氢键，水分子的两个氢原子与底物的羰基形成另一对氢键；酶的疏水腔与底物的疏水片段构成疏水相互作用。水解反应的过渡态是被剪切的酰氨键被水分子进攻，羰基碳原子由 sp^2 杂化的平面结构转变成偕二醇的 sp^3 四面体构型，偕羟基与 Asp25 和 Asp25′形成新的一对氢键(图 10-24)。

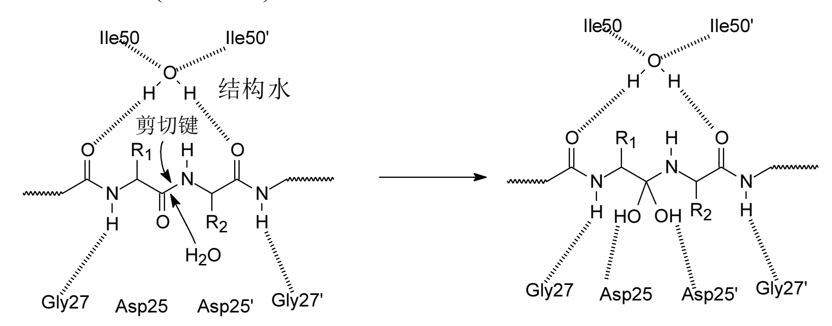


图 10-24　HIV 蛋白酶的水解机制

大多数 HIV-PR 抑制剂的设计是基于过渡态类似物原理，模拟底物肽的已知氨基酸序，并将剪切键的 sp^3 杂化碳用电子等排体替换。偕二醇片段是羰基的水合物，显然不能稳定地存在于分子中。羟乙基模拟了酰氨键水解的过渡态，许多蛋白酶抑制剂，都在类肽的结构中“镶嵌”有羟乙基片段。例如沙奎那韦[64] (saquinavir，144)和茚地那韦[65] (indinavir，145)都是含有羟乙基片段的过渡态类似物，为临床应用的抗 HIV 药物治疗艾滋病。

144　　　145

福沙那韦(fosamprenavir，146)是安普那韦(amprenavir)的磷酸酯前药[66]，含肼基的阿扎那韦(atazanavir，147)[67]和脲基的利托那韦(ritonavir，148)[68]等上市药物都是有代表性的拟肽过渡态类似物。

146

147

148

替拉那韦(tipranavir，149)是晚近研发的 HIV 蛋白酶抑制剂，是含有羟基吡喃酮类药物[69]。

149

根据过渡态偕二醇与 Asp25 和 Asp25′形成氢键，和用羰基氧模拟结构水的特征，Lam 等设计了一系列环脲化合物，这些化合物与 HIV 蛋白酶的结合能与实验的结合常数有良好的相关性，表 10-4 列出了不同基团取代的环脲经分子对接能量变化和实验的数据。

表 10-4　环脲类 HIV-PR 抑制剂的构效关系

R	K_i/(nmol/L)	结合能/(kJ/mol)
乙烯基	4.7	38
环丙基	2.1	42
2-萘基	0.31	62
p-羟甲基苯基	0.27	58

现处于临床研究的环脲类抑制剂有莫折那韦(mozenavir，150)[70]和 DMP-851 (151)[71]，可与逆转录酶抑制剂合用治疗艾滋病。

150　　151

10.4.5.2　神经氨酸酶抑制剂

流感病毒表面的血凝素与宿主细胞表面受体上的糖蛋白的唾液酸(sialic acid)残基相结合，病毒进入到细胞中，病毒复制后的子代颗粒脱离宿主细胞，黏合在细胞表面的唾液酸残基上。病毒表面上的神经氨酸酶(neuraminidase)又称唾液酸酶(sialidase)，是在流感病毒表面的具有催化作用的糖蛋白酶，其功能是催化处于末端的唾液酸(sialic acid)从糖蛋白上裂解下来，是流感病毒成熟和释放的重要步骤。因此，神经氨酸酶是抗流感病毒的重要靶标。唾液酸是含有乙酰氨基的吡喃糖酸，经α-苷键与多糖连接。水解反应的过渡态是四氢吡喃环由椅式变成带氧鎓离子的过渡态形式，设计稳定的化合物使类似于过渡态，可抑制神经氨酸酶。图 10-25 是神经氨酸酶裂解唾液酸残基的过程。

图 10-25　神经氨酸酶裂解唾液酸残基的过程

模拟过渡态氧鎓离子的化合物可与神经氨酸酶有强效的结合，抗流感药物扎那米韦(zanamivir，152)以二氢吡喃骨架模拟过渡态结构[72]，奥他米韦(oseltamivir，153)的骨架为环己烯[73]，化合物 154 用四氢吡咯为骨架，将碱性氮原子融合在环的骨架中[74]。

152　153　154

用不同长度的连接基连接两分子的扎那米韦成二聚化合物(155，156)，间隔的长度 18~22 Å(大约 14~18 个原子)时，体内抑制流感病毒的复制效力强于扎那米韦 100 倍，而且二聚体可引起神经氨酸酶四聚体和病毒颗粒发生聚集作用，表明在酶的四聚体之间形成多价结合，提高了抑制活性[75]。此外，二聚体延长了半衰

期，可每周一次给药[76]。

155

156

参 考 文 献

[1] Schneider P, Hawser S, Islam K. Iclaprim, a novel diaminopyrimidine with potent activity on trimethoprim sensitive and resistant bacteria. Bioorg Med Chem Lett, 2003, 13: 4217-4221

[2] Assaraf Y G, Molina A, Schimke R T, et al. Sequential amplification of dihydrofolate reductase and multidrug resistance genes in Chinese hamster ovary cells selected for stepwise resistance to the lipid-soluble antifolate trimetrexate. J Biol Chem, 1989, 264: 18326-18334

[3] DeGraw J, Brown V, Tagawa H, et al. Synthesis and antitumor activity of 10-alkyl-10-deaza-minopterins. A convenient synthesis of 10-deazaminopterin. J Med Chem, 1982, 25: 1227-1230

[4] Kuhnt D, Shih C, Rinzel S M, et al. A dideazatetrahydrofolate analog lacking a chiral center at C-6:N-[4-[2-(2-amino-3,4-dihydro-4-oxo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5yl)ethyl[benzoyl]-L-glu tamic acid is an inhibitor of thymidylate synthase. J Med Chem, 1992, 35: 4450-4454

[5] Bisset G M F, Pawelczak K, Jackman A L, et al .Syntheses and thymidylate synthase inhibitory activity of the poly-gamma-glutamyl conjugates of N-[5-[N-(3,4-dihydro-2-methyl-4-oxoq inazlin- 6-ylmethyl)-N-methylamino]-2-thenoyl]-L-glutamic acid (ICI D1694) and other quinaine antifolates. J Med Chem, 1992, 35: 859-866

[6] Walsh C T. Vacomycin resistance:decoding the molecular logic. Science, 1993, 261:308-309

[7] Sum P E, Petersen P. Synthesis and structure-activity relationship of novel glycylcycline derivatives leading to the discovery of GAR-936. Bioorg Med Chem Lett,1999, 9: 1459-1462

[8] Morimoto S, Takahashi Y, Watanabe Y, et al. Chemical modification of erythromycins.1. synthesis and antibacterial activity of 6-O-methylerythromycins A. J Antibiot.1984, 37:

187-196

[9] Bright G M, Nagel A A, Bordner J, et al. Synthesis, in vitro and in vivo activity of novel 9-deoxo- 9a-aza-9a-homoerythromycin A derivatives; a new class of macrolide antibiotics. The Journal of Antibiotics,1988, 41: 1029-1047

[10] Denis A, Agouridas C, Auger J M, et al. Synthesis and antibacterial activity of HMR 3647 a new ketolide highly potent against erythromycin-resistant and susceptible pathogens. Bioorg Med Chem Lett, 1999, 9: 3075-3080

[11] Brickner S J, Hutchinson D K, Barbachyn M R, et al. Synthesis and antibacterial activity of U-100592 and U-100766, two oxazolidinone antibacterial agents for the potential treatment of multidrug- resistant gram-positive bacterial infections. J Med Chem,1996, 39: 673-679

[12] Steven J, Brickner S J, Michael R, et al. Linezolid (ZYVOX), the first member of a completely new class of antibacterial agents for treatment of serious gram-positive infections. J Med Chem, 2008, 51: 1981-1990

[13] Madelmont J C, Godeneche D, Parry D, et al. New cysteamine (2-chloroethyl)nitrosoureas. Synthesis and preliminary antitumor results. J Med Chem, 1985, 28: 1346-1350

[14] Hiraoka A, Masaoka T, Shibata H, et al. A new nitrosurea derivative for the treatment of chronic myelogenous leukemia. Leuk Res, 1988, 12: 487-491

[15] Stevens M F G, Hickman J A, Stone R, et al. Antitumor imidazotetrazines. 1. Synthesis and chemistry of 8-carbamoyl-3-(2-chloroethyl)imidazo[5, 1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4(3H)-one, a novel broad-spectrum antitumor agent. J Med Chem, 1984, 27: 196-201

[16] Kidani Y, Noji M, Tashiro T. Antitumor activity of platinum (II) complexes of 1,2-diaminocyclohexane isomers. Gann, 1980, 71: 637-643

[17] DeGraw J, Brown V, Tagawa H, et al. Synthesis and antitumor activity of 10-alkyl-10-deazaminopterins. A convenient synthesis of 10-deazaminopterin. J Med Chem, 1982, 25: 1227-1230

[18] Allegra C J, Chabner B A, Tuazon C U, et al. Trimetrexate for the treatment of Pneumocystis carinii pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. New Engl J Med, 1987, 317: 978-985

[19] Hertel L W, Kroin J S, Misner J W, et al. Synthesis of 2-deoxy-2,2-difluoro-D-ribose and 2-deoxy-2, 2-difluoro-D-ribofuranosyl nucleosides. J Org Chem, 1988, 53: 2406-2409

[20] Piskala A, Synackova M, Tomankova H, et al. Direct synthesis of 5-azapyridine 2'-deoxyribonucleosides. Hydrolysis of 5-aza-2'-deoxycytidine. Nucl Acid Res, 1978, 54: 109-113

[21] Montgomery J A, Shortnacy-Fowler A T, Clayton S D, et al. Synthesis and biologic activity of 2'-fluoro-2-halo derivatives of 9-beta-D-arabinofuranosyladenine. J Med Chem, 1992, 35: 397-401

[22] Woo P W K, Dion H W, Lange S M, et al. A novel adenosine and ara-A deaminase inhibitor, (R)-3-(2-d-eoxy-beta-D-erythro-pentofuranosyl)-3,6,7,8-tetrahydroimidazo[4,5-d][1,3]diazepin-8-ol. J Heterocycl Chem , 1974, 11: 641-643

[23] Potier P. The synthesis of Navelbine(R) prototype of a new series of vinblastine derivatives. Semin Oncol, 1989, 16: 2-4

[24] Gueriitte-Voegelein F, Guenard D, Lavelle F, et al. Relationships between the structure of taxol analogues and their antimitotic activity. J Med Chem, 1991, 34: 992-998
[25] Borzilleri R M, Zheng X, Schmidt R J, et al. A novel application of a Pd(0)-catalyzed nucleophilic substitution reaction to the regio- and stereoselective synthesis of lactam analogues of the epothilone natural products. J Am Chem Soc, 2000, 122: 8890-8896
[26] Oikawa T, Ashino H, Shimamura M, et al. Inhibition of angiogenesis by erbstatin, an inhibitor of tyrosine kinase. J Antibiot, 1993, 46: 785-790
[27] Gazit A, Yaish P, Gilon C, et al. Tyrphostins. 2. Heterocyclic and alpha-substituted benzylidenemalononitrile tyrphostins as potent inhibitors of EGF receptor and ErbB2/neu tyrosine kinases. J Med Chem, 1991, 34: 1896-1907
[28] Petrova K G, Zhang Y M, Carter M , et al. Optimization and SAR for dual ErbB-1 /ErbB-2 tyrosine kinase inhibition in the 6-furanylquinazoline series. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 4686-4691
[29] Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, et al. Potent and selective inhibitors of the Abl-kinase: Pheny laminopyrimidine (PAP) derivatives. Bioorg Med Chem Lett, 1997, 7: 187-192
[30] Szakács Z, Béni S Z, Varga Z, et al. Acid-base profiling of imatinib (Gleevec) and its fragments. J Med Chem, 2005, 48: 249-255
[31] Charles Z D, Batorsky R, Bhide R, et al. Discovery and structure-activity relationships of imidazole-containing tetrahydrobenzodiazepine inhibitors of farnesyl- transferase. J Med Chem, 1999, 42: 5241-5253
[32] Hunt J T, Ding C Z, Batorsky R, et al. Discovery of (R)-7-cyano-2,3,4,5-tetrahydro-1-(1H-imidazol-4-ylmethyl)-3-(phenylmethyl)-4-(2-thienylsulfonyl)-1H-1, 4-benzodiazepine (BM S-214662), a farnesyltransferase inhibitor with potent preclinical antitumor activity. J Med Chem, 2000, 43: 3587- 3595
[33] Hucke O, Gelb M H, Verlinde C L, et al. The protein farnesyltransferase inhibitor tipifarnib as a new lead for the development of drugs against Chagas disease. J Med Chem, 2005, 48: 5415-5418
[34] Takahashi I, Asano K, Kawamoto I, et al. UCN-01 and UCN-02, new selective inhibitors of protein kinase C. I. Screening, producing organism and fermentation. J Antibiot, 1989, 42: 564-570
[35] Havlicek L, Hanus J, Vesely J, et al. Cytokinin-derived cyclin-dependent kinase inhibitors: Synthesis and cdc2 inhibitory activity of olomoucine and related compounds. J Med Chem, 1997, 40: 408-412
[36] Willamson D S, Parratt M J, Bower J F, et al. Structure-guided design of pyrazolo [1,5-a] pyrimidines as inhibitors of human cyclin-dependent kinase 2. Bioorg Med Chem Lett, 2005, 15: 863-867
[37] Wittmann S, Bali P, Donapaty S, et al. Flavopiridol down-regulates antiapoptotic proteins and sensitizes human breast cancer cells to epothilone B-induced apoptosis. Cancer Res, 2003, 63: 93-99
[38] Sun L, Liang C, Shirazian S, et al. Discovery of 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihydroindol-(3 Z)-yl

idenemet -l]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (2-diethylaminoethyl)amide, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase. J Med Chem, 2003, 46: 1116-1169

[39] Chen X C, Xie S, Bhat S, et al. Fumagillin and fumarranol interact with *P. falciparum* methionine aminopeptidase 2 and inhibit malaria parasite growth *in vitro* and *in vivo*. Chem & Biol, 2009, 16: 193-202

[40] Hardman J G, Limond L E, Gilman A G, et al. In Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill, 2001, P 1313

[41] Ewel C H, Urba W J, Kop W C, et al. Polyinosinic-polycytidylic acid complexed with poly-L-lysine and carboxymethylcellulose in combination with interleukin 2 in patients with cancer: Clinical and immunological effects. Cancer Res, 1992, 52: 3005-3010

[42] Zarubaev V V, Slita A V, Krivitskaya V Z, et al. Direct antiviral effect of cycloferon (10-carboxymethy-9-acridanone) against adenovirus type 6 in vitro. Antivir Res, 2003, 58: 131-137

[43] Hirota K, Kazaoka K, Niimoto I, et al. Discovery of 8-hydroxyadenines as a novel type of interferon inducer. J Med Chem, 2002, 45: 5419-5422

[44] Rautenschlein S, Miller R L, Sharma J M. The inhibitory effect of the imidazoquinolinamine S-28828 on the pathogenesis of a type II adenovirus in turkeys. Antivir Res, 2000, 46: 195-197

[45] Martin J L, Brown C E, Matthews-Davis N, et al. Effects of antiviral nucleoside analogs on human DNA polymerases and mitochondrial DNA synthesis. Antimicrob Agents Chemother, 1994, 38: 2743-2749

[46] Mansuri M M, Starrett J E, Glazzouli I, et al. 1-(2,3-Dideoxy-beta-D-glycero-pent-2-enofuranosyl) thyne. A highly potent and selective anti-HIV agent. J Med Chem, 1989, 32: 461-466

[47] Jeong L S, Schinazi R F, Beach J W, et al. Asymmetric synthesis and biological evaluation of beta-L- (2*R*,5*S*)- and alpha-L-(2*R*,5*R*)-1, 3-oxathiolane-pyrimidine and -purine nucleosides as potential anti-HIV agents. J Med Chem, 1993, 36: 181-195

[48] Bisacchi G S, Chao S T, Bachard C, et al. BMS-200475. A novel carbocyclic 2'-deoxyguanosine analog with potent and selective anti-hepatitis B virus activity in vitro. Bioorg Med Chem Lett, 1997, 7: 127-132

[49] Holy A, Rosenberg I. Synthesis of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine and related compounds. Coll Czech Chem Commun, 1987, 52: 2801-2809

[50] Starrett J E Jr, Tortolani D R, Russell J, et al. Synthesis, oral bioavailability determination, an in vitro evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA). J Med Chem.1994, 37: 1857-1864

[51] Erion M D, Kasibhatla S R, Bookser B C, et al. Design, synthesis, and characterization of a series of cyrome P(450) 3A-activated prodrugs (HepDirect prodrugs) useful for targeting phosph(on) ate-based drugs to the liver. J Am Chem Soc, 2004, 126: 5154-5163

[52] Kohlstaedt L A, Wang J, Friedman P A, et al. Crystal structure at 3.5 Angston, resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor. Science, 1992, 256: 1783-1790

[53] Hargrave K D, Proudfoot J R, Grozinger K G, et al. Novel non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. 1. Tricyclic pyridobenzo- and dipyridodiazepinones. J Med Chem, 1991,

34: 2231-2241

[54] Bonneau P R, Robinson P A, Lie Y, et al. Antiviral profile of BILR 355 BS against a large panel of clinical isolates with mutations conferring resistance to currently available non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI). Antivir Ther, 2005, 10: 22-25

[55] Romero D L, Morge R A, Genin M J, et al. Bis(heteroaryl)piperazine (BHAP) reverse transcriptase inhibitors: Structure-activity relationships of novel substituted indole analogues and the identification of 1-[(5-methanesulfonamido-1H-indol-2-yl) carbonyl]-4-[3-[(1-methyle-thyl) amino]-2-pyridinyl] pipezine monomethanesulfonate (U-90152S), a second-generation clinical candidate. J Med Chem, 1993, 36: 1505-1508

[56] Romero D L, Busso M, Tan C K, et al. Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors that potently and specifically block human imm unodeficiency virus type 1 replication. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 8806-8810

[57] Young S D, Britcher S F, Tran L O, et al. L-743,726 (DMP-266): A novel, highly potent nonnucleoside inhibitor of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39: 2602-2605

[58] Udier-Blagovic M, Tirado-Rives J, Jorgensen WL. Structural and energetic analyses of the effects of the K103N mutation of HIV-1 reverse transcriptase on efavirenz analogues. J Med Chem, 2004, 47: 2389-2392

[59] Takashima H, Ubasawa M, Sekiya K, et al. Synthesis and antiviral activity of 6-benzyl analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) as potent and selective anti-HIV-1 agents. J Med Chem, 1995, 38: 2860-2865

[60] Hopkins A L, Ren J, Tanaka H, et al. Design of MKC-442 (emivirine) analogues with improved activity against drug-resistant HIV mutants. J Med Chem, 1999, 42: 4500-4505

[61] Ludovici D W, Kavash R W, Kukla M J, et al. Evolution of Anti-HIV Drug CandidatesPart 2: Diaryltriazine (DATA) Analogues. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11: 2229-2234

[62] Das K, Clark A D Jr, Lewi P J, et al. Roles of conformational and positional adaptability in structure based design of TMC125-R165335 (etravirine) and related non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors that are highly potent and effective against wild-type and drug-resistant HIV-1 variants. J Med Chem, 2004, 47: 2550-2560

[63] Sawyer T K, Fisher J F, Hester J B, et al. Peptidomimetic inhibitors of human immunodeficiency virus protease (HIV-PR): Design, enzyme binding and selectivity, antiviral efficacy, and cell permeability properties. Bioorg Med Chem Lett, 1993, 3: 819-824

[64] Dorsey B D, Levin R B, McDaniel S L, et al. L-735,524: The design of a potent and orally bioavailable HIV protease inhibitor. J Med Chem, 1994, 37: 3443-3451

[65] Sorbera L A, Martin L, Castaner J, et al. Fosamprenavir. Drugs Fut, 2001, 26: 224-231

[66] Bold G, Capraro H G, Lang M, et al. New aza-dipeptide analogues as potent and orally absorbed HIV-1 protease inhibitors: Candidates for clinical development. J Med Chem, 1998, 41: 3387-3401

[67] Kempf D J, Marsh K C, Denissen J F. ABT-538 is a potent inhibitor of human immunodeficiency virus protease and has high oral bioavailability in humans. Proc Natl Acad

Sci USA, 1995, 92: 2484-2488

[68] Strohbach J W, Tommasi R A, Johnson P D, et al. Structure-based design of HIV protease inhibitors: Sulfonamide-containing 5,6-dihydro-4-hydroxy-2-pyrones as non-peptidic inhibitors. J Med Chem, 1996, 39: 4349-4353

[69] Lam P Y S, Ru Y, Jadhav P K. Cyclic HIV protease inhibitors. Synthesis, conformational analysis, P2/P2' structure-activity relationship, and molecular recognition of cyclic ureas. J Med Chem, 1996, 39: 3514-3525

[70] De Lucca G V, Lam P Y S. De novo design, discovery and development of cyclic urea HIV protease inhibitors. Drugs Fut, 1998, 23: 987-994

[71] Taylor N R, von Itzstein M. Molecular modeling studies on ligand binding to sialidase from influenza virus and the mechanism of catalysis. J Med Chem, 1994, 37: 616-624

[72] Kim C U, Lew W, Williams M A, et al. Structure-activity relationship studies of novel carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors. J Med Chem, 1998, 41: 2451-2460

[73] Maring C J, Stoll V S, Zhao C et al. Structure-based characterization and optimization of novel hydrophobic binding interactions in a series of pyrrolidine influenza neuraminidase inhibitors. J Med Chem, 2005, 48: 3980-3990

[74] Macdonald S J F, Cameron R, Demaine D A, et al. Dimeric zanamivir conjugates with various linking groups are potent, long-lasting inhibitors of influenza neuraminidase including H5N1 avian influenza. J Med Chem, 2005, 48: 2964-2971

[75] Macdonald S J, Watson K G, Cameron R, et al. Potent and long-acting dimeric inhibitors of influenza virus neuraminidase are effective at a once-weekly dosing regimen. Antimicrob Agents Chemother, 2004 ,48: 4542-4549

第 11 章　药物分子设计方法

11.1　引　　言

11.1.1　新药的创制

新药的研究与开发，涉及多种学科与技术，包括药物化学、药理学、药剂学以及相关的基础学科，如有机化学、生物化学、分子生物学、生物信息学、计算机科学学等。新药从启动研究，经开发研究，到临床研究，最后批准生产上市，需要各个学科、领域和技术的有机配合，以保障新药研发的质量和速度，使创制的新药更具有安全性、有效性、稳定性和质量可控性。安全、有效、稳定和可控是药物的基本属性。

创制新药的过程大体分两个阶段：研究阶段(research)与开发阶段(development)，这是两个相继发生又互相联系，旨在将一个化学物质(有机小分子、高分子或蛋白质)发展成为安全有效药物的系统工程。区分研究与开发阶段的标志是候选药物的确定。所谓候选药物是指拟进行系统的临床前试验并进入临床研究的活性化合物。

本章主要讨论新药研究阶段构建药物分子结构的问题——药物分子设计的方法，这是药物化学的一个主要任务。

11.1.2　新创制药的四大支柱

新药的研究阶段包含有四个重要环节，即靶标的确定，模型的建立，先导化合物的发现，先导化合物的优化。确定靶标和建立模型属于药理学研究的范畴；先导物的发现与优化是药物化学的研究范畴，二者相互依存和反馈，构成新药研究的基本画面(图 11-1)。

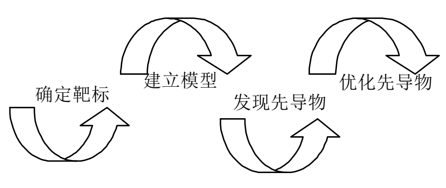


图 11-1　新药研究的四个支柱

11.1.2.1　靶标的确定

确定治疗的疾病种类以及作用的环节和靶标，是创制新药的出发点，现今新药研究大都起始于作用靶标、以靶标为核心的研究模式。随着对基因的深入了解，与疾病相关的基因及其表达产物不断地涌现，发现(identification)和确证(validation)药物靶标已经成为新药研发的重要起点。利用基因重组技术克隆出高表达基因的细胞，建立转基因动物模型或进行基因敲除等，可以验证与特定代谢途径或表型的靶标，用以研究疾病与药物治疗作用的关系。

11.1.2.2　模型的建立

选定靶标之后，需要建立生物学模型，以筛选和评价化合物的活性。建立的模型可有不同的层次，例如体外的分子水平(酶或受体)试验、组织细胞水平、对离体器官的作用，以及对模型动物的体内试验等，这些模型反映出针对所选定的靶标的作用。通常要有灵敏和可再现的检测指标和手段，并制定出评价标准，如果化合物符合标准，则研究项目继续进行；若未能满足标准，则应尽早终止研究。

11.1.2.3　先导化合物的发现

新药研究的物质准备是化合物的搜集和制备，通过活性筛选，将达到所设定活性指标的化合物定为入选的苗头化合物(hit)，再经不同模型的评价和提高活性强度的标准，以及化合物的结构类型和知识产权等多种因素考虑，将苗头化合物发展为先导化合物，这个过程称作先导化合物的发现(lead discovery)。先导化合物是指新发现的对特定靶标和模型呈现明确药理活性并值得优化的化学结构。先导物一般是结构新颖的化合物，也可以是具有新活性的已知化合物，但其活性应是新发现的。先导物可以从多方面的来源得到：天然产物，化学合成物，生物合成的化合物等。

11.1.2.4　先导化合物的优化

先导化合物一般不能直接成为药物，原因是多方面的，可能由于作用强度或特异性不高，或药代动力学性质不适宜，或有明显的毒副作用，或化学上或代谢上的不稳定性等，需要对其结构作化学改造和修饰，以优化上述性质，这就是先导化合物的优化(lead optimization)。先导物优化途径是基于相似性原理制备与先导物相关的一系列化合物，评价活性、初步药代和安全性，建立结构与活性或结构-药代性质的关系，简称构效关系(structure-activity relationship，SAR)。

这里所说的活性是泛指的生物活性，包括了药效、药代、毒性等。通过构效分析，指导设计合成，再经体内外活性评价，循环反馈，最终获得优良的化合物——候选药物(drug candidate)。确定了候选药物，意味着药物的创制从研究阶段进入开发阶段。

11.2　先导化合物的发现

11.2.1　天然生物活性物质——次级代谢产物

11.2.1.1　天然活性物质的特征

在药物发展的早期，利用天然物治疗疾病几乎是唯一的手段，时至今日，从植物、微生物、动物和海洋生物体内分离鉴定具有生物活性和药用前景的物质，仍是发现先导物乃至药物的重要组成部分。我国有悠久的文明历史，中药和民间药的医药遗产，是发现先导物的重要根据和丰富宝库；民间治疗的偏方验方，也是获得先导物的来源。中药科学化的研究与实践，也会提供新的线索物质。

天然产物又称次级代谢产物(secondary metabolites)，是生物体在长期的进化过程中，为维持自身的生存和群种的繁衍而在体内产生的微量物质[1]，并将有用的次级代谢产物最后以基因的形式固定下来。例如，多数能够产生次级代谢产物的植物或微生物因不能移行，需要用化学手段防御外来的侵袭或吸引环境的媒介帮助繁殖。一些植物为了保存自己而不被食草动物吃掉，产生诸如有强心作用的苷类或有神经毒的生物碱，或产生不愉快气味或味道、对其他生物产生驱避或排斥作用的物质等，使物种得以保存。某些植物产生萜类物质模拟昆虫激素，吸引昆虫帮助授粉。青霉菌产生青霉素并向周围分泌，抑制与其共存的细菌生长；热带雨林中的植物多含有抗真菌成分，因而能够在高湿热的环境中生存，以保持物种的繁衍。

次级代谢产物为履行特定的功能，往往与特异性受体发生强效结合作用，呈现较强的生物活性；另一方面，次级代谢产物的化学结构比较复杂，大都含有杂环，多个手性中心和功能基，因而与人体细胞的酶或靶蛋白分子之间有可能发生多位点的结合，作用显著且特异。此外，天然产物的结构新颖独特，也预示有新的作用机制，往往是有机化学家难以想象与设计的。现用的抗癌和抗感染药物大约 60%来自于自然界次级代谢产物或以其作为先导物而合成的，这些化疗药物的线索物质反映了“以毒攻毒，排除异己”的需求[2]。

应当强调指出，生物产生的次级代谢产物是自身生长和生存之所需，生来并非为了人类防治疾病。虽然有些天然活性物质可以直接药用，但多数可能因为作用的特异性不高，或药代动力学性质不合理，或毒副作用较强，不能直接药用，但却是创制新药的良好先导物。此外，除非用生物工程或广泛栽培的途径生产大宗的天然产物作为药物原料，直接从动植物体内索取活性成分，对物种的保存和生态平衡也会构成威胁。

11.2.1.2 天然活性物质的药用价值

天然活性物质结构多样和新颖，作用特异而广泛，已经成为药物化学和研发新药的物质平台。基于药理作用的特征和化学结构的不同，天然产物的研发可有不同的途径着重点：

(1) 天然活性物质直接用作药物，前提是其药效、特异性或选择性、药代性质和物化性质都(或基本上)适于临床应用，例如利血平和万古霉素等。

(2) 天然活性物质作为先导物，保持其基本结构，做适当的分子变换以优化药效、药代、物化性质或安全性。例如紫杉醇，长春碱等。

(3) 改造天然产物，合成其类似物或简化物，可认为是基于天然产物的分子设计(natural product-derived design)，例如由可卡因衍化出的“卡因”类局麻药。由组胺设计合成的“替丁”类 H2 受体阻断剂。作为内源性物质，也可以视作基于配体的分子设计。

下面通过实例说明天然活性物质的分子多样性，作用特异性和结构改造的必要性。

11.2.1.3 举例

1. 紫杉醇

自红豆杉属(*Tauxs*)植物中分离得到的紫杉醇(paclitaxel，1)，为萜类化合物，具有强效抗肿瘤活性，作用靶标是微管蛋白，机制是促进微管蛋白聚合，并使其稳定化，从而阻止了微管蛋白在有丝分裂过程中的功能。临床用于治疗卵巢癌、乳腺癌和恶性黑色素瘤，效果显著。

紫杉醇分子的母核是含有四个稠合环系，依次为 6-8-6-4 环。分子的“南部”特别是含氧四元环和 13 位侧链对维持活性有重要作用，是必需的药效团。其缺点是水溶性低，生物利用度差。以紫杉醇为先导物进行系统的结构优化，构效关系表明，13 位侧链为含有叔丁基类似物的多西他赛(doxetaxel，2)，水溶性增加，活性强于紫杉醇，且无交叉耐药，已广泛应用。2 位的苯甲酰基与 13 位的疏水基团发生疏水相互作用，是紫杉醇活性的重要因素，对 2 位用不同酰基替换苯甲酰基

的类似物进行了系统研究[3]。

1　　2

2. 环氧噻酯 B

环氧噻酯 B (epothilone B，3)是微生物 *Sorangium cellulosum* 的代谢产物，为含噻唑和环氧乙烷片段的大环内酯，诱导微管聚集，并竞争性地抑制 ^{3}H 标记的紫杉醇同微管蛋白的结合，与紫杉醇有相同的作用靶标和机制，推论二者有共同的药效团特征，与微管蛋白的结合位点相同[4]。体内外试验表明与紫杉醇有相似的抗肿瘤作用。

为提高环氧噻酯 B 的稳定性，经半合成方法将内酯环改成内酰胺，得到伊沙匹隆(ixabepilone，4)，提高了稳定性仍保持诱导微管蛋白的聚集和抗肿瘤活性，现处于 III 期临床试验阶段，用于治疗脑瘤和乳腺癌[5]。

3　　4

改造环氧噻酯 B 的另一条途径是除去环氧基团变成双键，成为脱氧噻酯(desoxyepothilone B，5)，降低了化合物的毒性，现处于 II 期临床研究[6]。进而引入另一个双键以提高抗肿瘤活性和增加代谢稳定性，得到 9,10-脱氢脱氧噻酯(9,10-dehydro-dEpoB，6)，现处于临床 I 期研究阶段。最后，在 6 的基础上将 12 位上的甲基变成三氟甲基的化合物(fludelone，7)，降低了毒性，增加了治疗指数，现处于临床前研究[7]。

5　　6　　7

3. 他汀类药物

血液中低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)是引起动脉粥样硬化和心肌梗死的主要因素。体内胆固醇主要来自自身的生物合成,由乙酰辅酶A开始,从头合成(*de novo*)经 20 步酶催化反应而生成，其中的限速步骤是由 3-羟基-3-甲基戊二酸辅酶(HMG-CoA，8)还原成甲羟戊酸(mevalonic acid，9)，催化该步反应的酶是 HMG-CoA 还原酶，因此抑制该酶的活性，是降低体内胆固醇含量的一个途径。

乙酰辅酶A → 8 —HMG-CoA还原酶, NADPH→ 9 → 胆固醇

8　　9

某些微生物的次级代谢产物与人体的正常代谢产物具有相似性，这可能是生物界长期进化过程中保存下来的。自霉菌 *Penicillium citricum* 培养液中得到的洛伐他汀(lovastatin，10)分子中含有二羟基戊酸结构，为 HMG-CoA 还原酶的强效抑制剂[8]，是第一个临床应用的降胆固醇药物。分子中的六氢萘是维持药物分子与酶紧密结合的疏水基团，对抑制作用起重要作用。其活性形式为开环的双羟基羧酸结构(11)，K_i 值为 1.0 nmol/L，比底物羟基甲基戊二酸的 K_m 值(10^{-5} mol/L)低 10000 倍，因而抑制作用很强。

10　　11

构效关系表明，β-羟基-δ-内酯环和疏水片段是维持活性的药效团，具有以下模式的结构(12)可能呈现活性:

12

式中 A 为 CH=CH 或 CH_2-CH_2，X 为芳环。例如阿托伐他汀(atorvastatin, 13)、氟伐他汀(luvastatin, 14)和尼伐他汀(nisvastatin, 15)。用绝热滴定量热方法研究他汀类药物与 HMG-CoA 还原酶结合的热力学实验表明，药效团结合于酶的相同部位，而疏水基团的疏水相互作用、氢键和范德华力是不相同的，分子对接模拟方法证明与实验结果一致[9]。

13　　14　　15

应当指出，体内的胆固醇以及生物合成路径上其他重要物质，例如，性激素、皮质激素和孕激素等，可能因为他汀类药物抑制了其早期阶段的 5 碳化合物的合成而受到干扰，出现不良反应，但事实上多数他汀类药物副作用较少。作为降胆固醇的他汀药物是幸运的，阿托伐他汀连续多年为全球最畅销的药物之一。

4. 大环内酯类抗生素

大环内酯系指具有 14 或 16 元环内酯结构的聚酮(polyketides)抗生素，环上一般连有 2 个或多个糖基，作用靶标为核糖核蛋白体的 50S 亚基，结合后抑制肽酰基转移酶，影响核糖体的移位，临床治疗感染性疾病。红霉素(erythromycin，16)是有代表性的抗生素，但有较明显的胃肠道刺激作用，研究表明，在酸催化下 6 位羟基与 9 位酮基形成半缩酮，再与 12 位羟基生成缩酮，该过程是红霉素产生胃肠道刺激和失去抗菌作用的主要原因。为避免缩酮的生成，将 6 位羟基甲醚化，得到克拉霉素(clarithromycin，17)，临床应用表明，克拉霉素对胃肠道的刺激很小，而且因脂溶性增加，口服生物利用度提高，化学稳定性较好，因而改善了抗菌作用。另一个大环内酯阿奇霉素(azithromycin，18)抗菌作用进一步提高。

16 17 18

3 位经氧原子相连的克拉定糖并非抗菌作用的必需片段，经水解氧化成 3-酮仍保持活性，泰利霉素(telithromycin，19)[10]和赛霉素[11] (cethromycin，20)是新一代的大环内酯，这两个药物的 6 位羟基均被烷基化。

19 20

5. 免疫调节剂

环孢素 A(cyclosporine A，21)为真菌 *Beauveria nivea* 产生的环肽，最初发现具有抗真菌活性，抑制细胞壁的合成。后又证实是非甾体类免疫抑制剂。环孢素 A 含有 11 个氨基酸，除第 8 个氨基酸为 *R* 构型，其余均为 *S* 构型(第 3 个无手性)。所有未甲基化的氮原子均形成氢键(共 4 个，用虚线标出)。在第 9 和 10 残基的酰胺为顺式构型，其他的酰甲胺基为反式构型。环孢素 A 是亲脂性药物。他克莫司(tacrolimus，22)为大环内酯抗生素，是 *Streptomyces tsukubaensis* 的发酵代谢产物[12]。这两个化合物都是强效免疫抑制剂，但作用机制不同。环孢素 A 选择性地抑制 T 淋巴细胞的信号传导[13]，是现今临床广泛应用的免疫抑制剂，用于器官移植和自身免疫性疾病。他克莫司通过与胞浆蛋白 FKBP 结合，抑制 T 淋巴细胞的激活[14]。他克莫司的作用强于环孢素 A。

21　　22

6. 喜树碱

喜树碱(camptothecin，23)是从我国特有植物喜树(*Camptotheca acuminata*)中分离的含喹啉的生物碱，作用靶标为 DNA 拓扑异构酶 I(topoisomerase I)，其抗癌作用与作用于拓扑异构酶 II 的鬼臼和蒽醌类药物的机制不同。喜树碱为含有五环的平面结构，分子具有很强的刚性，水溶解性低，难以临床应用。其衍生物拓扑替康(topotecan，24)、依利替康(irinotecan，25)均为含有胺基侧链的 10-羟基喜树碱，其盐酸盐可注射应用，临床上治疗肺癌、卵巢癌和结肠癌等。艾沙替康(exatrecan，26) [15]是在 A 和 B 环稠合环己胺，制成甲烷磺酸盐，易溶于水，临床治疗骨癌和乳腺癌。可以看出，替康类药物的修饰是在 A 和 B 环上，而 C、D 和 E 环未变。

23　　24

25　　26

7. 四环素类

四环素(tetracycline，27)是 20 世纪 50~60 年代广泛应用的广谱抗感染药物，

经半合成发明了多种四环素类药物，但由于出现的耐药性和难以克服的不良反应，临床上已较少使用。四环素类的抗菌作用机制是与细菌核糖体 30S 亚基相结合，阻止了氨基酸酰化 *t*-RNA 分子进入核糖体的 A 部位，从而阻断了氨基酸残基向肽链中的参入。出现耐药性的原因有二，一是细菌增加了对四环素类的细胞外排作用，二是核糖体提高了自我保护能力。2005 年上市的替加环素(tigecycline，28)是在 9 位引入甘氨酰胺取代基[16]，由于它与核糖体的强亲和力(大约强 16 倍)，克服了耐药菌核糖体蛋白的保护作用，对四环素耐药菌是敏感的，并且细菌对替加环素的外排泵出作用也较弱。这是一个挖掘已有的天然活性物质的潜力的成功例子。

27 28

8. 靛玉红

这是一个研究中药和复方的成功实例，其代表性在于用活性跟踪的方法拆解复方、找出单味药、“提炼”出有效成分——先导物的过程。我国传统中药方剂“当归芦荟丸”含有 10 味中药，传统上用作清热解毒药，以后临床用于治疗慢性粒细胞白血病。经过拆方分析对单味药的提取物作活性筛选，发现其中青黛对荷瘤动物有显著抑制作用。进而在青黛中的多种成分中，发现靛玉红(indirubin，29) [17]具有显著的抗癌作用。虽然靛玉红是一个已知化合物，但我国首先发现其具有抗癌作用，临床上直接用它作为治疗白血病药物。后来研究发现，靛玉红对依赖于细胞周期蛋白的激酶(cyclin-dependent kinases，CDKs)和糖元合成激酶-3β(GSK-3β)有强效抑制作用[18]。由于靛玉红水溶性很低，口服吸收性差，通过分子变换，在结构中引入烷基以阻止分子间氢键的形成，而且将双吲哚环 2,3-连接变为 3,3-连接，得到了新药甲异靛(30)，改善了水溶解度和吸收性，成为治疗慢性粒细胞白血病的药物[19]。

当归芦荟丸------►青黛 ------► 29 ------► 30

虽然靛玉红是研究传统中药的成功范例，但这种研究模式并没有普遍意义。因为中药复方的特点是多成分和多靶标的协同作用，在拆解和分离单一成分时，

往往失去原有的活性。许多活性跟踪实验表明，本来有活性的总提取物在逐步分离过程中丢失了活性。中药科学化需要策略和理念上的创新。

11.2.2　广泛和随机筛选

设计合成的新化合物或基于临床作用分离得到天然产物除对特定的靶标模型作活性评价外，往往还进行随机筛选，即尽可能用多种体外模型评价化合物活性，以发掘未预料的生物活性，这是一种经济和效率上的考虑。其实，许多天然活性物质的先导结构是靠广泛筛选得到的，例如前述的紫杉醇[20]。合成的吩噻嗪类化合物起初对筛选的模型是没有活性的，后经广泛筛选发现了抗过敏和抗精神病作用。催眠镇静药佐匹克隆(zopiclone，31)为 GABAa 受体调节剂，作用于中枢的苯并二氮䓬受体，其结构类型是芳杂环并吡咯烷酮，与苯并二氮䓬结构迥异，也是经广泛筛选发现的[21]。

31

所以，在一定意义上讲，广泛筛选是以多种靶标模型评价多种化合物活性的过程，为了降低无效劳动，提高命中率，药物化学家根据经验和直觉可作出某些预测进而加以干预。

随机筛选是以固定的靶标或模型为前提，从众多化合物中筛选有活性的物质。例如新抗生素的发现往往从各处的土壤中，寻找有抗菌或抗癌活性的抗生菌。美国国家肿瘤研究所(NCI)就是专门搜集全球样品发现抗肿瘤先导物的非盈利机构[22]。第一个降胆固醇药物洛伐他汀的发现，也是通过对 HMG-CoA 还原酶的随机筛选发现的[23]。高通量筛选(high-throughput screening，HTS)本质上是综合了上述两种筛选策略，即多靶标对化合物样品库的同时筛选。实现高通量筛选的前提是离体筛选方法的灵敏性、微量化和自动化，以及大容量多样性化合物样品库的建立。国外大中型制药企业已经完善了高通量筛选体系，各有数十到上百万个非组合化学方法构成的结构多样的化合物库。

虽然高通量筛选方法是发现苗头或先导物的途径，但仍有一定的局限性。主要表现在命中率低，国外的命中率大约为万分之一，而且质量(成药性)也不高，以致许多专家认为 HTS 的实施与传统药物化学的方法相比，投入-产出比未必合算，因为没有增加新药的发现数量和速度[24]。我国为实现有效率的高通量筛选，

需要积累足够规模的化合物样本，适时地建立灵敏的筛选模型，并应避免走国外的弯路。

11.2.3　基于配体或底物的分子设计

一些重要的内源性物质，例如与疾病相关酶的底物或受体的配体，是发现先导化合物的重要来源。生物化学和分子药理学的发展，为系统地寻找和研究生物活性物质和功能提供了坚实的基础，成为药物分子设计的新作用环节或靶标，例如激素、神经递质和维生素的功能、生物合成的级联反应、代谢中间体和终产物，都可作为设计药物分子的出发点。

当酶或受体的三维结构还不清楚的情况下，可通过这些活性物质的结构变换，以增强或阻断原来的生理生化过程，对异常的或失衡的机体功能加以纠正或调节。

11.2.3.1　5-羟色胺受体调节剂

5-羟色胺(5-hydroxytryptamine，32)是神经递质，是由色氨酸在体内脱羧氧化代谢生成，主要存在于肠、脑和血小板中。研究表明，5-羟色胺与偏头痛有密切关系，脑中 5-羟色胺水平降低引起偏头痛。但是，5-羟色胺不能直接药用，系因口服利用度低，而且对各受体亚型 5-HT_1，5-HT_2 和 5-HT_3 的作用无选择性。所以，以 5-羟色胺作为先导物，创制选择性地激动 5-HT_1 受体的药物，是寻找治疗偏头痛病的目标。通过系统变换 5 位羟基，发现 5-氨甲酰吲哚-3-乙胺(33)对 5-HT_1 受体的激动作用强于 5-羟色胺 2 倍，对 5-HT_2 受体比 5-羟色胺弱 25 倍。33 提高了对受体的选择性。进一步变换结构，在羰基与苯环之间插入亚甲基，氮原子被单甲基化，得到的 5-乙酰甲胺基吲哚乙胺(34)更加提高了对 5-HT_1 受体的选择性激动作用。34 的羰基被磺酰基代替得到的 35 仍然保持选择性，再进一步修饰，将 3 位侧链的伯氨基变换成二甲胺基，得到舒马曲坦(sumatriptan，36)。舒马曲坦对 5-HT_1 受体的激动作用虽然低于 5-羟色胺 4 倍，但对 5-HT_2、5-HT_3、多巴胺和肾上腺能受体均无作用，选择性很高，动物试验也呈现特异的治疗效果和良好的口服利用度。

32　　33　　34

35　　36

11.2.3.2　IIb/IIIa 糖蛋白受体拮抗剂

血小板活化和聚集是许多与血栓病相关疾病的根源，一些内源性激动剂刺激血小板并发生聚集，导致纤维蛋白原与血小板 IIb/IIIa 受体结合而活化。被 IIb/IIIa 受体识别和结合的主要区段是纤维蛋白原的三肽残基 Arg-Gly-Asp(RGD，37) [25]。蛇毒和水蛭素中含有 RGD 的链状或环状肽(38)，是阻断 IIb/IIIa 受体活化从而抑制血小板聚集的药效团。所以，含有或模拟 RGD 结构的肽或拟肽可作为纤维蛋白原的拮抗剂，是创制抗血栓药物的一个途径。Fisher 等用 ^{1}H NMR 研究了对 IIb/IIIa 有强效抑制作用的环肽，证明甘氨酸-天冬氨酸的构象为β-转折；精氨酸的碱性基团胍基和天冬氨酸的酸性基团羧基之间的距离，是由 RGD 的肽链连接，在空间构成特定的配置，胍基氮原子与羧基碳原子的距离为 15~16Å，是受体拮抗剂的药效团特征[26]。

37　　38

用苯脒替代胍基，以非肽类结构作为连接羧基端的支撑骨架，并满足脒基与羧基的距离和其他结构要求，合成了具有强效阻断糖蛋白 IIb/IIIa 受体活性的药物，例如拉米非班(lamifiban，39) [27]和罗他非班(lotrafiban，40) [28]，是新型的抗血栓药物。

39　　40

11.2.3.3　白三烯拮抗剂

白三烯(leucotrienes，LT)包括 LTC_4、LTD_4 和 LTE_4，又称肽白三烯，是花生四烯酸的代谢产物，作为哮喘病的重要介质，是由于激活了半胱氨酸白三烯 1 ($CysLT_1$)受体，后者是 G-蛋白偶联受体的超家族之一员。$CysLT_1$ 受体活化会引起支气管收缩和黏膜分泌等哮喘症状。在受体结构未知的情况下，根据配体 LTD_4 的化学结构，可作出如下的推测：长链的烃基与受体的疏水腔发生疏水性结合；中间的共轭烯片段与受体的平坦疏水区结合；末端羧基进入受体的亲水腔穴中；另一羧基与受体发生离子键结合[29]，如图 11-2 所示。

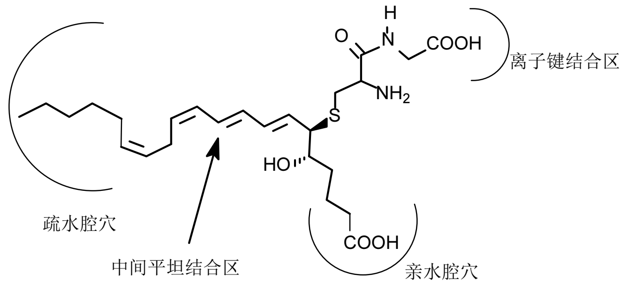


图 11-2　配体 LTD_4 与 $CysLT_1$ 受体结合示意图

白三烯是柔性分子，在低能量状态下有多种构象，构象间处于平衡。确定与受体结合的构象(即活性构象)需要实验加以证实。为了研究白三烯拮抗剂，通过设计-合成和活性评价等循环往复，已研发出 LTD_4 拮抗剂，临床用于抗过敏和抗哮喘药物。

这些药物的结构骨架与白三烯有很大差异，相互之间也不相同，但分析结构特征，可发现有共同的药效团特征。例如西纳司特(cinalukast，41)的环丁基模拟了白三烯的疏水链，中间苯乙烯基为平坦的结合区，羧基和酰胺基相当于与两个极性部分的结合。普仑司特(pranlukast，42)分子中的苯丁基为疏水结合基，中间苯环为平坦结合区，四氮唑相当于羧基(pK_a 与羧基相近)。

41　　　　　　42

同样，扎非司特(zafirlukast，43)和孟鲁司特(montelukast，44)分子的左端为疏水结合部，中间均有平坦的疏水结合基团，扎非司特分子中氨基两侧与羰基和磺

酰基相连，氮上氢原子有较强的酸性，履行羧基的功能。

43　　　　44

11.2.3.4　血管紧张素转化酶抑制剂

血管紧张素转化酶(angiotensin-converting enzyme，ACE)是调节动脉血压的重要酶系，催化两个反应：将血管紧张素 I(十肽)水解成血管紧张素 II(八肽)，后者有强效的收缩血管作用；催化裂解缓激肽(bradykinin，九肽)成无活性的七肽，缓激肽是强效的血管舒张剂。所以，ACE 使血压增高，ACE 抑制剂可降低血压。

自蛇毒中提取的替普罗肽(teprotide，45)可竞争性地抑制 ACE，阻止血管紧张素 II 的生成。

Pyr-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro-OH

45

替普罗肽是九肽，口服生物利用度低。在设计新型 ACE 抑制剂中，分析比较 ACE 与羧肽酶 A 催化反应的异同，对设计 ACE 抑制剂提供了有意义的信息[30]：它们都是从羧基端裂解氨基酸，反应中心都有锌离子的参与。比较两个酶催化过程的区别，羧肽酶 A 一次裂解一个氨基酸，ACE 一次裂解两个。已知羧肽酶与底物的结合和催化特征是被水解的肽键羰基氧与锌离子形成配位键，羧基负电荷与酶的正电荷产生静电引力，苄基发生疏水性结合，如图 11-3(a)所示。然而羧肽酶 A 抑制剂虽可与其结合，却没有被剪切键，如图 11-3(b)所示。

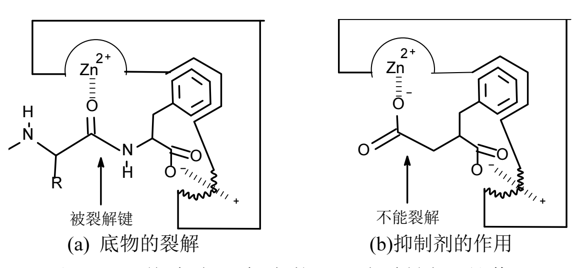
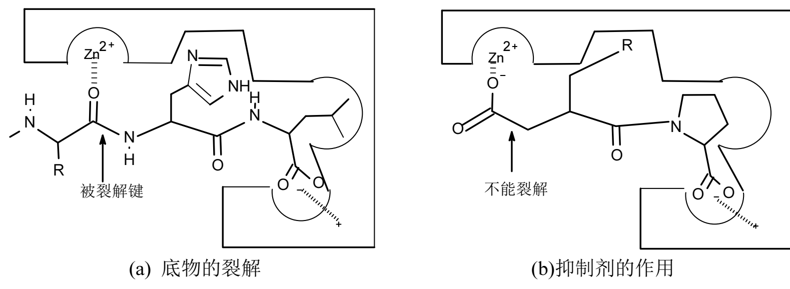


图 11-3　羧肽酶 A 与底物(a)和抑制剂(b)的作用

血管紧张素转化酶一次裂解掉两个氨基酸残基，从裂解键到端基羧基的距离比羧肽酶裂解键到羧基的距离长，因而提出图 11-4 所示的设计模型。



(a) 底物的裂解　　　　(b)抑制剂的作用

图 11-4　血管紧张素转化酶与底物(a)和抑制剂(b)的作用

图 11-4(a)是 ACE 裂解血管紧张素 I 的示意图，被裂解酰胺键的羰基氧、咪唑基、异丁基和羧基分别在不同的部位发生结合，酰胺键被剪切。按照这个模型设计抑制剂[图 11-4(b)]，将各种氨基酸 *N*-琥珀酰化，两个羧基分别与锌离子和正电荷形成配位键和离子键，氨基酸的α-碳上的取代基进入疏水腔穴中，从而与 ACE 产生强结合作用。但不能发生催化反应，因为没有酰胺键可剪切。实验证明，在各种氨基酸中 *N*-琥珀酰脯氨酸的抑制作用最强，这与 ACE 强效抑制剂替普罗肽的 C-端基为脯氨酸相一致。进一步优化活性，用巯基替代琥珀酸的一个羧基，增强了与锌离子的螯合能力，结合得到了卡托普利(captopril，46) [31]，或保持羧基并引入苯乙基以增加疏水性，创制出依那普利拉(enaprilat，47)。又由于依那普利拉的口服利用度较低，乙酯化成依那普利(enalapril，48)为强效降压药[32]。佐芬普利(zofenopril)为卡托普利的类似物，巯基被苯甲酰化，脯氨酸的四氢吡咯环上引入了较大的疏水基团[33]。

46　　　　47　　　　48

11.2.3.5　维甲类化合物

全反式维甲酸(retinoic acid，49)是调节细胞分化和维持细胞正常生长和发育的外源性物质，作用于维甲酸 RAR 受体。动物的膳食中缺乏维甲类化合物，会停止生长，并呈现上皮细胞恶性病变的趋势。维甲酸治疗早幼粒白血病开辟了“分化治疗”的新领域[34]。但由于维甲酸有较强的毒副作用，限制了应用。分析维甲酸呈现生物活性的结构因素为：(1)分子一端具有疏水性和立体性的环己烯基；(2) 分子另一端的羧基；(3)连接疏水端与羧基端的共轭链。若化合物结构满足以上

三个特征，有类似的拓扑结构，或具有等效的构象，则呈现维甲酸的生物活性。芳维甲(arotinoid acid，50)是维甲酸的芳香性构象等价物，其诱导分化作用强于维甲酸数百倍，但因刺激性强而未能药用[35]。首藤等用四甲基四氢萘胺与对胺苯二甲酸缩合得到的酰胺化合物具有强效维甲酸作用。酰胺键的 p-π共轭保障了整个分子的共轭性。比较这三个化合物，可以看出结构之间有对应性。他米巴罗汀(tamibarotene，51)是新上市的维甲酸类似物，临床用于治疗白血病[36]。

COOH　　COOH　　H N COOH O

49　　50　　51

11.2.3.6　H_2 受体拮抗剂的抗溃疡作用

以内源性物质为先导物研制受体拮抗剂药物中，成功的例子是组胺受体的阻断剂，特别是 H_2 受体阻断剂，不仅创制出一系列抗消化道溃疡药物，而且也确定了组胺 H_2 受体的存在。

现今已知组胺受体有三种亚型：H_1、H_2 和 H_3 受体。激动 H_1 受体引起过敏性反应，如枯草热、荨麻疹和哮喘等。H_1 受体的阻断剂用作抗组胺药物，有代表性的如苯海拉明(diphenylhydramine)和美吡拉敏(mepyramine)。

组胺还具有刺激胃壁细胞分泌胃酸的功能，但所激活的受体与引起过敏的受体不同，因为抗过敏药物不能抑制胃酸的分泌。该受体称作 H_2 受体。寻找 H_2 受体阻断剂的先导物，是通过变换配体分子结构，考察对受体作用的变化。

首先研究了组胺的类似物是否会激活 H_2 受体使胃酸分泌，发现 4-甲基咪唑对 H_2 受体的激动作用强于对 H_1 受体的作用。推论环上的甲基改变了分子的碱性，并使某种构象处于不利的能量状态，该不利的构象可能是激动 H_1 受体的构象。

下一步的变换结构，使受体能够识别和结合，但不能使受体活化，为此将侧链 NH_3^+ 作各种变换，关键的突破是发现 *N*-脒基组胺(胍乙基咪唑，52)是 H_2 受体部分激动剂，且有弱拮抗作用。氨基和胍基在 pH 7.4 虽然都带有正电荷，但后者的电荷分散在较大的平面区域内，推论产生拮抗作用时有较大的结合区，胍基处于某种构象体时可以结合 H_2 受体，产生拮抗作用，另一种构象产生激动作用，而组胺的氨基达不到产生拮抗作用的区域。

52　　53

第三步是消除化合物的激动作用。将胍基中离咪唑最近的 N 原子换成 S 原子成异硫脲乙基咪唑(53)，使电荷只集中在外端的两个氮原子上，增强了拮抗作用，但仍有激动作用。延长末端胍基或异硫脲基与咪唑的距离，前者拮抗作用增强，而后者却降低了。推论正电荷可能与受体中存在的羧基形成氢键时侧链上的 N 参与了两个氢键的形成(54)。进而再延长碳链，并将末端氨基甲基化，得到第一个 H_2 受体拮抗剂布立马胺(burimamide，55)。布立马胺的发现说明延长侧链的硫脲更接近于拮抗结合位点，*N*-甲基化增强了疏水性，有利于结合。

54　　55

然而布立马胺仍因活性不高而不能应用。为调整咪唑环的电性，降低侧链的推电子性，将一个亚甲基换成硫原子，进一步增强了拮抗作用。

第四步是改变咪唑环，引入甲基又增强了活性，得到甲硫米特(metinamide，56)。为消除甲硫米特的肾脏毒性，将硫脲换成氰基胍，得到西咪替丁(cimetidine，57) [37]。

56　　57

咪唑环并非必需的药效团，可用其他的杂环置换，例如雷尼替丁(ranitidine，58)和法莫替丁(famotidine，59)等 H_2 受体拮抗剂分别是用呋喃环和噻唑环替换咪唑环的有效抗溃疡药。

58　　59

11.2.3.7　内皮素拮抗剂

内皮素(endothelin，60)具有收缩血管作用。机体受到某种刺激后，内皮细胞、平滑肌和神经细胞产生内皮素，提高了血管平滑肌的紧张度。内皮素一般在血液中浓度很低，但在某些疾病状态下，浓度提高，对心血管、肾脏和血压产生不利影响。研究内皮素拮抗剂是创制降压药和心血管药物的重要靶标。

内皮素受体已知有三种亚型，ET_1，ET_2 和 ET_3。内皮素为 21 肽，含有两个二硫键。变换内皮素的结构以消除激动作用增强拮抗作用，得到第 1 个环肽拮抗剂(BQ-123，61)[38]，由于生物利用度低，只能作为药理学工具药。在发展非肽类内皮素拮抗剂中，最先研究了磺酰胺类化合物，其中波生坦(bosentan，62)对受体的亲和力 $K_i = 95$ nmol/L，临床用于治疗慢性心力衰竭[39]。西他生坦(sitaxsentan，63)是含有双芳基的磺酰胺，以钠盐形式用药[40]。阿他生坦(atrasentan，64)也是内皮素 ET_1 受体拮抗剂，酸性基团是羧基，临床用作抗肿瘤药物[41]。

60　　61　　62

63　　64

另一类非肽类拮抗剂是苯基茚羧酸化合物，它是由数据库搜寻、核磁共振研究、分子模拟和合成化学相结合而发现的。NMR 研究内皮素在溶液中的构象表明，分子中 Tyr-13 和 Phe-14 残基的两个芳香环与 Asp-18 的羧基的空间位置同 BQ-123 的芳环和羧基相对应，随后在小分子数据库中搜寻发现 1,3-二苯基茚可满足上述

要求，得到化合物 65，它的三个芳香环呈螺旋桨形配置，与内皮素的 Tyr-13 和 Phe-14 的两个芳香环相当，羧基相应于 Asp-18 的羧基位置。65 是强效拮抗剂，K_i=0.43 nmol/L[42]。化合物 J-104132(66)[43]、阿利生坦(ambrisentan，67)和达生坦(darusentan，68) [44]等均为强效的内皮素受体阻断剂。这些药物的共同结构特征是中心(环)上的羧基和至少有两个取代的芳环。

65　　66

67　　68

11.2.3.8　5-HT$_3$ 受体阻断剂

这是一个由已知药物的药理作用作为发现先导物的实例。甲氧氯普胺[45] (metoclopramide，69)作为抗止吐药和胃动力药临床使用近 30 年了。原以为甲氧氯普胺只是多巴胺受体阻断剂，但通过对十二指肠模型的量效关系研究，发现有另一种机制，随后揭示出为 5-HT$_3$ 受体阻断剂。以后发现使用大剂量甲氧氯普胺可抑制癌化学治疗和放射治疗引起的呕吐，这与常规用量的止吐药作用机制不同，进一步揭示与 5-HT$_3$ 受体有关。甲氧氯普胺是多巴胺和 5-HT$_3$ 受体双重阻断剂。进一步对侧链作构象限制，例如二乙胺基用哌啶环置换，并引入疏水性基团苄基，得到氯波必利[46] (clebopride，70)，它对多巴胺的拮抗作用增强了，而胃动力作用未变。

69　　70

当 4′位基团由平展键变为直立键时，则只有胃动力作用。用托品烷代替哌啶环对构象作进一步限制，发现 BRL-24682(71)的托品烷为直立键时，只有 5-HT_3 拮抗作用，失去了多巴胺拮抗作用，比氯波必利的作用强 300 倍[47]。通过结构变换，最终将对两种受体的作用完全分开，发现一系列 5-HT_3 受体阻断剂，例如昂丹司琼(ondansetron，72)、格拉司琼[48](granisetron，73)和帕诺司琼[49] (palonosetron，74)。“司琼”类药物用于治疗肿瘤化疗引起的恶心呕吐症状。

71　　72　　73　　74

11.2.3.9　P 物质拮抗剂

P 物质(substance P)为神经递质，属于心动激肽(tachykinin)家族成员，是中枢和外周神经传导的介质。P 物质作用于神经激肽 1(neurokinin 1，NK-1)受体，介导疼痛传导、舒张血管、收缩支气管平滑肌和激活免疫系统等。所以，阻断 P 物质受体是治疗炎症、疼痛和哮喘病的靶标。P 物质是 21 肽，结构与功能研究表明，羧基端的氨基酸序列对于活性非常重要。通过研究找到了对 NK-1 受体有高亲和力的寡肽拮抗剂 Ac-Thr-D-Trp(CHO)-Phe-NmeBlz (75)，该化合物选择性地结合于 NK-1 受体[50]，进而合成了活性更强的三肽(76) [51]，并由三肽衍生出非肽类化合物(77)[52]。

75　　76　　77

NK-1 受体拮抗剂有多种临床用途，如 aprepitant(78)[53]和 netupitant(79) [54]为 NK-1 受体拮抗剂，临床用于治疗肿瘤化疗引起的恶心和呕吐。

78　　79

11.2.3.10　雌激素受体调节剂

雌激素包括雌二醇、雌酮和雌三醇等内源性物质，是雌激素受体的激动剂。该受体属于甾体激素和生长激素等受体超家族一员，存在于细胞核内。雌激素对于促进和维持雌性动物的第二性征和性器官的发育与成熟有重要作用，雌激素还有降低血清胆固醇和影响骨质吸收等功能。

以雌二醇(estradiol，80)为先导物合成的非甾体药物如己烯雌酚(diethylstil-bestrol，81)是雌二醇的结构模拟物。二者的结构相似性表现为分子的长度和宽度均为 8.55 Å 和 3.88 Å，两个羟基之间的距离也相近。己烯雌酚与雌二醇同雌激素受体的结合位点相同，药理作用相似。

他莫昔芬(tamoxifen，82)是模拟雌二醇和己烯雌酚结构的受体拮抗剂，分子中二苯乙烯结部分与己烯雌酚相似。他莫昔芬分子中 A 环在体内被羟基化，相当于雌二醇的 3 位羟基，决定了与受体结合的互补性。碱性侧链是拮抗剂的重要药效团特征。其他的“昔芬”药物均含有碱性链。他莫昔芬对绝经妇女的激素依赖性乳腺癌有良好治疗作用，用于乳腺癌术后化疗的辅助性治疗。

进一步研究发现，雌激素受体的激动剂或拮抗剂结构可允许有较大的变换，无须像他莫昔芬一样在一个 sp^2 杂化的碳原子上有两个芳香环，例如雷洛昔芬(raloxifen，83) [55]和奥美昔芬(ormeloxifene，84)[56]是在芳杂环或芳酯环上有苯甲酰和碱性烷基链的化合物。

80　　81　　82

83　　　　84

雷洛昔芬的抗雌激素作用强于他莫昔芬。苯并噻吩环的 3-取代的苯甲酰基在空间上垂直于苯并噻吩环，形成“T”形构象，图 11-5 是雷洛昔芬和雌二醇分别与雌激素受体结合的复合物晶体结构的叠合图[57]，可以看出这两个药物与受体的结合方式基本相同，雷洛昔芬的碱性链与苯并噻吩环呈垂直取向。雷洛昔芬作为雌激素受体调节剂，在骨组织中呈现激动作用，而抗癌作用较弱，临床用作治疗骨质疏松药物。

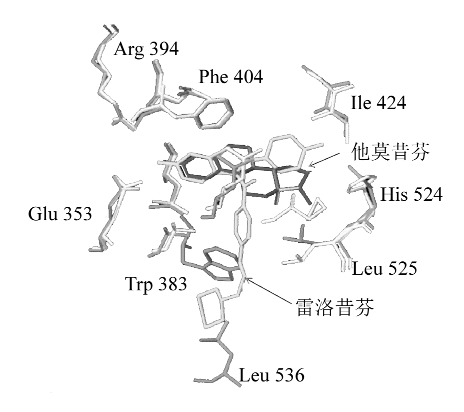


图 11-5　雌二醇和雷洛昔芬与雌激素受体的结合模式

11.2.4　基于药物的副作用发现先导化合物

理想的药物宜只对特定组织中特定的靶标起作用，或只对病原体的靶标发生作用，这就是药物的特异性作用。然而，机体的组织和细胞中含有多种具有生理功能的生物大分子，存在大量的受体和酶系，药物很难对唯一的靶标起专一性作用，这样会出现临床的不良反应。而且，先导化合物具有多种生物活性，在结构优化时往往也不能消除所有不希望的活性，这也是临床出现副作用的原因。

如果密切观察临床副作用，分析和研究生理生化机制，可以发掘和利用药物的副作用作为创制新药的线索。借鉴药物的副作用，并发展成主要作用，扬弃原有的主要药理作用，已成为发现先导化合物的一个途径。

11.2.4.1　治疗关节炎的含金药物

20 世纪 20 年代人们认为含金化合物可治疗微生物感染，但在使用中却发现减轻了关节炎患者的症状，从而用金硫葡糖[58] (aurothioglucose，85)治疗溶血性链球菌引起的关节炎，减轻患者的关节疼痛。离体试验未发现金硫葡糖有抑菌或杀菌作用，因而纠正了含金药物是通过抑制微生物而缓解关节炎症状的误解。深入研究作用机制，证明金硫葡糖可抑制巨球蛋白(macroglobulin)的聚集，从而抑制了这些蛋白作为结缔组织的免疫抗原的生化过程，减轻了关节炎的症状和发展。后来又发现硫代马来酸金钠(myochrysine，86)也可减轻关节炎的症状。上述两个药物均需注射使用。1985 年上市的金诺芬(auranofin，87)是口服治疗关节炎的含金药物[59]。

85　　86　　87

11.2.4.2　苯并噻二嗪的利尿作用

用磺胺治疗细菌感染的患者，发现尿量增加，提示磺胺有利尿作用。与此同时，研究证明肾小管可分泌氢离子，导致尿液成酸性。氢离子是由碳酸酐酶催化二氧化碳与水反应生成碳酸，后者离解出氢离子。磺胺可抑制碳酸酐酶，减少了 H^+与 Na^+的交换量，使尿液呈碱性。Na^+与 HCO_3^-带着大量的水排出，呈现利尿作用。

然而磺胺不能直接用于利尿药，因为需要大量的服用，引起副作用。以磺胺为先导物，设想若增强磺胺的酸性，可提高与碳酸酐酶的结合。在合成大量的磺胺类化合物中乙酰唑胺(acetazolamide，88)成为第一个口服利尿药，以后又研制出双氯非那胺(dichlorphenamide，89)。构效关系表明，苯环上氯原子和酰胺基取代有利于利尿作用。当苯环上酰胺基和磺酰胺基处于邻位时，可环合成苯并噻二嗪化合物，其中氯噻嗪(chlorthiazide，90)和氢氯噻嗪(hydrochlorothiazide，91)为口服利尿降压药。

88　　89　　90　　91

进而研制出长效的利尿药环噻嗪(cyclothiazide，92)和苯氟噻嗪(bendroflumethiazide，93)。

92　　93

11.2.4.3　磺酰脲的降血糖作用

20 世纪 40 年代应用磺胺异丙噻二唑(sulfasomizole，IPTD，94)治疗伤寒病，在使用大剂量时造成患者死亡，死因是由于 IPTD 刺激胰腺的胰岛细胞，引起胰岛素释放，导致急性和持久性低血糖。然而这并未引起人们利用此副作用研究口服降糖药的注意。与此同时，临床又发现氨磺丁脲(carbutamide，BZ55，95)的降糖作用强于 IPTD，并作为治疗糖尿病的药物。

94　　95

自此以后合成了大约一万个磺酰脲化合物，构效关系表明苯环上需有一个取代基，但可不必是氨基，脲基的氮上氢被烷基或环烷基取代有利于降糖作用，继而发明了甲磺苯丁脲(tolbutamide，96)、氯磺丙脲(chloropropamide，97)、格列吡嗪(glipizide，98)和格列波脲(glibornuride，99)。另一个降血糖药格列齐特(gliclazide，100)兼有抗血小板聚集作用，因而可阻止糖尿病患者的视网膜病(retinopathy)的发展。

	R	R′
96	CH_3	$n-C_4H_9$
97	Cl	$n-C_3H_7$
98	H_3C–(pyrazine)–C(=O)–$NHCH_2CH_2$—	(cyclohexyl)
99	CH_3	CH_3, CH_3, CH_3, OH (bornyl)
100	CH_3	—N (bicyclic)

11.2.4.4　D-青霉胺的抗风湿性关节炎作用

D-青霉胺(penicillamine，101)为 3-巯基缬氨酸，可与多种金属离子如 Cu^{2+}、Pb^{2+}、Hg^{2+}和 Zn^{2+}发生螯合作用，临床用作重金属解毒剂和治疗遗传性铜代谢缺陷的 Wilson 病。

在使用 D-青霉胺解重金属中毒时，发现可缓解风湿性关节炎的症状。生化研究表明，巯基化合物可溶解巨球蛋白(macroglobulin)，后者是引起结缔组织免疫反应的抗原，引起关节炎。D-青霉胺的作用是降低血液中的致风湿因子[60]。进而合成了吡哆醇的巯基类似物 5-巯基吡哆醇(102)和用二硫键连接的双吡哆醇(103)，都有显著的抗风湿性关节炎作用。

101　　102　　103

11.2.4.5　单胺氧化酶抑制剂的发现

1951 年用异烟肼(isoniazid，104)和异丙异烟肼(iproniazid，105)治疗结核病，发现服用异丙异烟肼患者的情绪提高，而未见于服用异烟肼者。研究机制发现异丙异烟肼可抑制单胺氧化酶(MAO)，后者是治疗抑郁型精神病的靶标。构效关系表明，酰基并非必需基团，肼基氮原子需有烷基或环烷基取代，进而发现苯乙肼(phenelzine，106)具有抗抑郁作用。因此发现了一系列胺类的 MAO 抑制剂，如反苯环丙胺(tranylcypromine，107)和司来吉兰(selegiline，108)均为抗抑郁药。

104　　105　　106

107　　108

11.2.4.6　米诺地尔促进毛发生长

米诺地尔(minoxidil，109)作用于血管平滑肌，使外周动脉舒张，临床用作降压药。长期服用米诺地尔可促进毛发生长，尤其于头面部的生长旺盛，其作用机制是开启钾离子通道。米诺地尔的促毛发生长作用已局部用于治疗脱发症[61]。另一降压药二氮嗪(diazoxide，110)也可促毛发生长，作用机制与米诺地尔相同[62]。以米诺地尔为先导物作结构优化合成了含有 2,4-二氨基嘧啶-*N*-氧化物的化合物(111，112)，具有促毛发生长作用。

109　110　111　112

11.2.4.7　芳构酶抑制剂

格鲁米特(glutethimide，113)是非巴比妥类强效镇静药，临床用于治疗癫痫病，由于它具有严重副作用而于 20 世纪 60 年代停用。该副作用类似于雌激素受体拮抗剂，以后又发现氨鲁米特(aminoglutethimide，114)对乳腺癌患者有类似于切除肾上腺作用，因而广泛由于治疗绝经后妇女乳腺癌。研究格鲁米特的作用机制，发现其可抑制芳构酶(aromatase)，芳构酶催化体内睾酮和雄甾烯二酮转变为雌酮和雌二醇反应。格鲁米特降低了雌激素水平，从而抑制了依赖雌激素的乳腺癌生长[63]。

113　114　115

116　117　118

进而合成了来曲唑(letrozole，115)、利阿唑(liarozole，116)、法倔唑(fadrozole，

117)和伏氯唑(vorozole，118)等芳构酶抑制剂，临床治疗乳腺癌。关于芳构酶的作用机制已在第 7 章酶抑制剂中叙述。

11.2.4.8　西地那非增强男性勃起药

扎普司特(zaprinast，119)最初临床用作抗过敏药，后来体外实验发现有扩张血管和降低麻醉犬血压的作用。研究机制表明扎普司特抑制了磷酸二酯酶 5(PDE5)的活性，PDE5 催化水解环鸟苷酸(cGMP)成 GMP，cGMP 可扩张血管，增加血流量。扎普司特用于治疗心绞痛。根据扎普司特与 cGMP(120)的结构相似性，Terrett 等设计合成了类似物西地那非(sildenafil，121)，西地那非是 PDE5 的选择性抑制剂[64]。

119　　120　　121

磷酸二酯酶有多种亚型，对不同的 PDE 亚型的抑制作用产生相异的药理活性。表 11-1 列出了扎普司特与西地那非对 PDE 三种亚型的抑制活性(IC_{50})。

表 11-1　扎普司特与西地那非对 PDE 抑制作用的比较

药物	PDE1(IC_{50})	PDE3(IC_{50})	PDE5(IC_{50})
扎普司特	9.4μmol/L	58μmol/L	2.0μmol/L
西地那非	260μmol/L	65μmol/L	3.6μmol/L

西地那非作为治疗心血管疾病的候选药物，在临床研究过程中发现可使男性勃起功能不全的患者增强了勃起程度，在终止临床研究收回药品时因为这个“意外”的作用受试男性拒不交回，引起研制者的注意。后经研究，发现一氧化氮(NO)对勃起过程有重要作用，NO 可经 cGMP 激活第二信使，证明了西地那非的药理作用机制。由于西地那非的这种独特功能，其适应证为增强勃起功能的药物，但不是性功能增强剂。

基于西地那非的模拟创新药物如伐地那非(vardenafil，122) 是将母核骨架异嘌呤的氮原子易位，成为新的骨架；乌地那非(udenafil，123)是韩国 2005 上市的模拟新药[4]，其药效学强度和选择性以及药代动力学性质均优于西地那非。

另一结构类型的PDE5抑制剂是含有稠合的哌嗪酮的他达拉非(tadalafil，124)[65]。

122　　123　　124

回顾新药发现的历史，许多药物的发明与发现是在动物实验或临床实践中的副作用或次要作用中发展出来的。副作用对于药物的应用是不利的，但是从新药研究的角度看，又并非完全是坏事，因为如果副作用有潜在的治疗价值，并非完全的毒性，则为开辟药物的新用途或研发新的类似物提供了重要线索。这样，在已有药物的基础上，通过结构改造，消除或减弱原有的主作用，提升原来的副作用成主作用，研发出新的药物。基于副作用的选择性优化(selective optimization of side activities，SOSA)[66]，是从现有药物中发现新作用的策略。

11.2.5　基于代谢作用发现先导化合物

进入体内的药物被机体视作外来异物，力图排出体外，主要途径是经过 I 相和 II 相代谢反应，转化成利于排出的水溶性代谢产物。药物经代谢产生的后果大都是失去或降低生物活性，即代谢失活。但是有一些药物经生物转化活性反而提高，发生代谢活化。这类药理活性更强的代谢产物，可以作为先导化合物，也可以直接作为药物，已有不少成功的实例。本节所讨论的是药物本身就有活性，经代谢作用活性进一步提高或产生新的药理作用。这与以后讨论的前药和生物前体不同，前药和生物前体本身没有活性，需经体内转变后方呈现活性。

11.2.5.1　解热镇痛药对乙酰氨基酚

解热镇痛药非那西丁(phenacetin，125)在体内发生代谢氧化脱乙基，生成对乙酰氨基酚(paracetamol，126)，商品名扑热息痛，其解热镇痛作用强于非那西丁，而且也没有非那西丁可使血红蛋白生成亚铁血红蛋白(methaemoglobin)的不良反应。

125　　126

11.2.5.2　抗疟药环氯胍

抗疟药氯胍(proguanil，127)在体内代谢环合生成环氯胍(cycloguanil，128)，具有更强的抗疟活性。环氯胍为均三嗪化合物，后来证明是模拟了蝶啶环的部分结构，为二氢叶酸还原酶抑制剂。由此研制的乙胺嘧啶(129)也是强效抗疟药。

127　　128　　129

11.2.5.3　维生素 D_3

维生素 D_3(130)与骨骼形成有关，促进钙和磷酸根在软骨组织中沉积。维生素 D_3 在体内转变成 1α,25-二羟基骨化醇(1α,25-dihydrocholecalciferol)，后者已证明是激活钙和磷酸的主要形式，它有维生素 D_3 的所有功能。维生素 D_3 的羟基化是分步进行的，先在肝脏中形成 25-羟基化产物(131)，然后在肾脏中发生 1α-羟基化，所以，除维生素 D_3 外，25-羟基骨化醇和 1α,25-二羟基骨化醇 (132)是作用更强的活化形式，均已开发为药物。

130　　131　　132

11.2.5.4　保泰松的代谢产物

抗炎药物保泰松(phenylbutazone，133)在体内发生氧化代谢，主要有两个产物：丁基的 ω-1 羟基化(134)和苯环的羟基化。苯环的对位羟基化生成羟基保泰松(oxyphenbutazone，135)，抗炎活性强于保泰松，因而羟基保泰松作为新的抗炎药物上市，无需体内的肝脏转化。

有趣的是丁基羟基化的保泰松产生了新的药理作用：可促进尿酸排泄，因而具有治疗痛风病的潜在用途，以该化合物作为先导物研制出抗痛风病药物磺吡酮

(sulphinpyrazone，136)[67]。

133　　134　　135　　136

11.2.5.5　抗抑郁药物的代谢活化

抗抑郁药物丙咪嗪(imipramine，137)在体内发生 *N*-去甲基化，代谢生成地昔帕明(desipramine，138)，因其抗抑郁作用强于丙咪嗪，成为新的抗抑郁药。由此推测其他抗抑郁药物的侧链胺基 *N*-去甲基化也可能是活化过程，从而由阿米替林(amitriptyline，139)得到去甲替林(nortriptyline，140)。其他抗抑郁药物如普罗替林(protriptyline，141)、马普替林(mapritilline，142)和氟西汀(fluoxetine，143)的胺基均为单甲基化，也是基于上述的活化过程。

137　　138　　139　　140

141　　142　　143

11.2.6　幸运发现先导化合物

以上讨论的发现先导化合物的方法，虽然都是有目的的筛选或合成，但在很大程度上仍然具有偶然性。生物体是复杂的体系，可变因素很多，即使有科学归纳和理论推断，仍未必有预见性，往往经过反复试验(trial and error)得到先导物，偶然性和机遇常常占主导地位。本节所叙述的，属偶然获得，称作幸运发现(serendipity)。物质的多样性为幸运发现准备了先决条件，但在这犹如大海捞针的

操作中，精心地观察、分析和归纳，适时地把握机遇，是成功的关键，因为偶然寓于必然之中。无论是天然产物或是人工合成的化合物中，幸运发现往往开辟了新的药物治疗方向和揭示出新的作用机制。

11.2.6.1　青霉素的发现

Fleming 发现的青霉素开辟了抗生素药物的新纪元，这个划时代的成就，却完全是偶然的事情。Fleming 的幸运在于，构成青霉素生成的数个条件或机遇同时聚在一起，被他天才地捕捉住了。首先，他所在的地下实验室中的青霉菌污染了实验的培养基，而该霉菌又是为数不多的青霉素产生菌；他所用的琼脂培养基中同时存在青霉菌和细菌，构成了观察青霉素抗菌作用的环境；最重要的是，他在未计划和未预料的实验中，经仔细观察发现了青霉菌生长的抑菌圈，作出了正确的判断和结论。以后发展的青霉素类、头孢菌素类和β-内酰胺酶抑制剂等，都是由 Fleming 智慧和勤奋的工作所奠定的基础。

11.2.6.2　苯二氮䓬的发现

第一个作为安定药的苯二氮䓬是氯氮䓬(chlordiazepoxide，Librium，144)，是偶然发现的。罗氏公司的 Sternbach 在从事新型安定药物研究时，计划合成苯并庚氧二嗪(145)，当 R_1 是 CH_2NHCH_3、R_2 是苯环时，实际得到了喹唑啉 *N*-氧化物(146)，*N*-氧化物没有安定作用，因此终止了该研究项目。

NHCH3 / Cl / N / N+ / O- / R1 / O / N / R2 / N+ / O

144　　145　　146

两年后在清洗实验仪器时，他发现烧瓶中存在的以为是喹唑啉 *N*-氧化物的结晶，并好奇地将样品送至药理部门筛选，意外地发现有明显的安定作用，再进一步根据反应条件推导产物结构证明为苯二氮䓬，反应历程如图 11-6 所示。

Cl / N / CH2Cl / N+ / O- / R2 / H2NCH3 / H / NHCH3 / CH2Cl / NHCH3 / CH2 / Cl / N / OH / NHCH3

图 11-6　由喹唑啉 *N*-氧化物生成氯氮䓬的反应历程

可以设想，如果在清洗仪器时，没有留意烧瓶内的结晶或未进行药理实验，那么未必在那时发现苯二氮䓬类安定药。

11.2.6.3　铂络合物的发现

1964 年 Rosenburg 在研究电流对大肠杆菌生长的影响时，发现大肠杆菌的形态变长了。研究证明铂电极在电流的作用下，铂被氧化并与氨形成络合物，释放到培养液中，该络合物与细胞发生了作用[68]。后来证明该络合物为顺式二氯二氨铂，简称顺铂(cisplatin，147)，它使细胞的形态发生了改变。用顺铂对移植性肿瘤试验，有强效的细胞毒作用，这一发现开辟了铂类抗肿瘤药物的新领域。如今铂类药物有卡铂(carboplatin，148)、奥沙利铂(oxaliplatin，149)和洛铂(lobaplatin，150)等。

147　　148　　149　　150

11.2.6.4　锂盐的抗精神病作用的发现

早年溴化锂用作镇静药，狂躁型精神病患者服用后，发现其尿中有某种含氮物质，尿液浓缩后的剩余物注射入豚鼠体内，呈现毒性，怀疑为尿酸所致。为证明这一点，用水溶性较高的尿酸锂注射豚鼠，却未发现毒性。在否定了尿酸作用后，推断锂盐可能有保护作用，进而证明碳酸锂有镇静作用，从此开辟了碳酸锂治疗精神病的新途径[69]。锂盐治疗精神病的机制尚不清楚，但已知锂离子进入细胞后作用于第二信使的某个酶系统。

11.2.6.5　β-受体阻断剂的发现

ICI 公司在研制β-受体阻断剂时，认为丙萘洛尔(pronethalol，151)结构中的萘环与羟乙胺侧链都是重要的，所以在合成新化合物时，在保留这两部分的基础上，中间加入一些原子或基团以调整萘环与氮原子之间的距离，提高分子对受体的亲和力。在设计时希望加入-OCH_2-片段，得到β-位延长的侧链，合成的原料应为β-萘酚。但因未找到该原料，使用了α-萘酚，与侧链缩合后，得到了普萘洛尔(propranolol，152)，为治疗心绞痛的新药。后来制备了β-异构体，活性低于普萘洛尔。

151　　152

11.2.6.6　联苯双酯的发现

由北五味子(*Schizandra chinensis* Bei)果实中分离的一种木质素五味子丙素(schizandrine C，153)具有保护肝脏作用，可降低四氯化碳引起的小鼠肝脏损伤。在合成这类联苯化合物中，发现中间体联苯双酯(bifendate，154)的保肝作用强于五味子丙素。在最初确定五味子丙素时，误将甲氧基和亚甲二氧基的相对位置定错，按照错误的结构合成的中间体经动物试验表明其保肝作用强于五味子丙素，确定联苯双酯为可降低转氨酶的肝脏保护药。有趣的是，当纠正了五味子丙素的结构后，合成联苯双酯的位置异构体(α-bifendate，155)，却只有很弱的保肝作用。当初若正确确定了五味子丙素的结构，未必能或至少会推迟联苯双酯的研制[70]。由联苯双酯为先导物又优化出新的类似物双环醇(bicyclol，156)。

153　　154　　155　　156

11.3　先导化合物的优化

先导化合物的优化是新药研究的必经阶段，目的是完善先导化合物的活性和成药性质，得以确定候选药物，进入开发阶段。优化是将非药的化合物转化成药物的重要过程。由于先导化合物主要提供了一种新作用的结构类型，往往活性强度弱，选择性不高，药代动力学不合理，物理化学性质不适宜，或有安全性等问题，不能作为药物，需要对化学结构进行优化，经过结构变换和修饰，改善药效、药代、物化性质和安全性，并成为新化学实体(new chemical entity)。优化先导物不能只限于活性的提高。

迄今所用的先导物优化方法大都是经验性的总结，通过设计合成系列性的类似物(analogs)、同源(congeners)或衍生物(derivatives)，进行生物学评价，分析结构-物化性质、结构-活性、结构-药代和(或)结构-毒性的关系，经过化学和生物学的循环反馈，达到候选药物的要求。

11.3.1　先导化合物优化的一般方法

11.3.1.1　剖裂和剪切

剖裂(dissection)和剪切(shearing)是对比较复杂的先导物进行结构简化的操作，常用于复杂的天然活性物质。一般是将先导物剖析成两个或数个片段，即作分子剪裁，合成的简化物经活性评价和构效关系分析，“提取”出决定活性的基本结构或特征。所以剖裂操作是对药效团的“剥离”过程。吗啡类镇痛药经环的剖裂和剪切，优化出许多结构简化、副作用低的阿片受体激动剂。

吗啡(morphine，157)含有五个稠合环，去除呋喃环和醇羟基，得到左啡诺(levorphanol，158)，镇痛活性强于吗啡 3 倍，说明呋喃环和羟基不是必需基团，但仍有成瘾性。进而剖除环己烷环，得到喷他佐辛(pentazocine，159)，保持了镇痛作用，降低了成瘾性。再剪切一个环得到哌替啶(pethidine，160)，说明稠合环也不是必需的。剖开哌啶环得到只含苯环的右丙氧芬(dextropropoxyphene，161)和美沙酮(methadone，162)仍然是作用于阿片受体的镇痛药。这是复杂天然产物剖裂的典型事例，虽然在简化过程中合成了上千个化合物中只有为数不多的成为药物，但说明剖裂简化是可行的[71]，而且也确定了阿片受体激动剂的药效团特征。

157　158　159

160　161　162

从古柯植物中分离的可卡因(cocaine，163)是含有托品烷的苯甲酸酯生物碱，

用作局部麻醉药，但有较强的成瘾性。经剖裂去除四氢吡咯环和甲氧羰基得到β-优卡因(β-eucaine，164)，仍保持局麻作用，再剪切哌啶环得到局麻药普鲁卡因(procaine，165)。这个由可卡因到普鲁卡因的剖裂过程，揭示了这类局麻药物的药效团——氨基醇的苯甲酸酯。

163　　164　　165

具有缩胆囊素(cholecystokinin，CCK)受体拮抗作用的天然产物阿司利辛(asperlicin，166)是微生物 *Aspergillus alliaceus* 的次级代谢产物[72]，分子中含有 7 个环，是苯并二氮䓬与二氢吲哚环的缩合物。缩胆囊素是三十三肽，最初发现于胃肠道，具有刺激胰腺分泌和增加胃肠蠕动的功能，后来又证明缩胆囊素是神经递质和神经调节剂。阿司利辛作为 CCK 受体拮抗剂，影响胰腺分泌和胃肠道运动。经结构剖析和活性评价，普拉那西匹(pranazepide，167) [73]和地伐西匹(devazepide，168) [74]为其简化物，临床用于治疗胃肠道分泌和蠕动等疾患。

166　　167　　168

11.3.1.2　拼合——孪药的形成

拼合(association)的方法与剖裂相反，是将两个药物或其药效团经共价键结合成单一分子的操作，拼合得到的药物称作孪药(twin drug)。拼合的目的是提高药物的作用强度，或同时作用于与疾病相关的两个不同的靶标而提高疗效。若拼合相同的分子(分子重复)，生成同孪药，两个不同的分子拼合生成异孪药。拼合方式可用单键相连，也可用连接基(linker)连接，以调整两个分子间距离。

孪药可在体分裂成原来构成的两个药物，犹如前药，以改善药学和药代动力学性质，若以整体分子起作用，则是作用于双位点或双靶标的单一分子。

用两分子的水杨酸酯化乙二醇，生成水杨酸乙二醇酯(169)，提高抗炎作用；将两个阿司匹林分子的乙酰基连接一起，形成双阿司匹林(bisaspirin，170)；甲醛

与两分子磺胺乙酰的氨基缩合，形成缩醛样抗感染孪药(171)。

169　　170　　171

分子重复(molecular replication)得到的拼合型药物，是指两个或多个相同分子或片段共价连接的化合物。许多天然产物是结构重复性分子，例如抗凝血药库美他罗(coumetarol)、利胆药洋蓟酸(cynarine)、棉酚(gossypol)、双香豆素(dicumarol)、*β*-胡萝卜素、放线菌素 D 和番木瓜碱(carpaine)等。合成的双重或多重药物例如抗真菌药芬替克洛(fenticlor)、冠状动脉扩张药戊四硝酯(pentaerythrityl tetranitrate，172)、血管扩张药山梨烟酯(sorbinicate，173)、抗原虫药物戊烷脒(pentamidine，174)和抗胆碱药地美溴铵(demecarium bromide，175)等。

172　　173

174　　175

由亚烷基链连接相同的分子，例如 7 个亚甲基连接 2 个他克林分子(bis-(7)-tacrine，176)，其抑制胆碱酯酶的活性 IC_{50}=0.2 nmol/L，强于单体他克林上千倍(IC_{50}=0.3μmol/L) [75]。天然产物 veraguensin(177)可抑制血小板活化因子(p1atelet-activating factor，PAF)受体，IC_{50}=1.1μmol/L，设计的不对称的化合物 L-659989(178)，IC_{50}=l nmol/L[76]。

176　　177　　178

拼合方法的重要应用是研制双重作用药物(dual-acting drug)，这种双重作用可以是作用于两个不同的受体的作用、与一个受体的两个不同的结合位点的作用、与两个不同酶的作用或与一个酶、一个受体的作用。例如阿普米定(arpromidine，179)拼合了 H_1 受体拮抗剂和 H_2 受体激动剂的药效团，该药物是强效的抗过敏药[77]。化合物 KF-l5766(180)兼有血栓烷 A_2(TxA_2)和组胺 H_1 受体拮抗作用的药效团，有抗哮喘和抗过敏作用，为口服应用的抗哮喘药[78]。

179　　180

拼合的分子可同时抑制两个酶的实例如兼有抑制环氧合酶(COX)和 5-脂氧酶(5-LOX)的药物，由于 COX 和 5-LOX 分别催化前列腺素和白三烯的生物合成，同时抑制这两种酶的分子不仅增强了抗炎作用，安全性也会提高。例如选择性 COX2 抑制剂塞来昔布(selecoxib，181)与 5-脂氧酶抑制剂 ZD-2138(182)[79]经拼合得到化合物 183，兼有 COX2(IC_{50}=50 nmol/L)和 5-LOX(IC_{50}=3 nmol/L)双重抑制作用[80]。

181　　182　　183

然而，双叔丁基羟基苯甲醛与五元环内酯缩合物 KME-4(184)本身具有对 COX2 和 5-LOX 双重抑制作用，从结构中难以分清对两种酶抑制的药效团。经优化得到的达布非隆(darbuferone，185)，为无致溃疡作用的口服抗炎药[81]。

184　　185

同时抑制酶活性和拮抗受体的化合物，会产生强效的协同作用。例如二苯并氮氧草的衍生物(186)，可阻断血栓烷 A_2 受体活性，并且抑制血栓烷 A_2 合成酶。该化合物抑制催化生成 TxA_2 的酶系，同时也阻断已生成的 TxA_2 受体的活性，因此具有强效的抗哮喘作用[82]。

186

β-受体阻断剂普萘洛尔(propranolol，187)与碳酸酐酶抑制剂美夫西特(mefruside，188)药效团经适宜的连接基连接，得到有利尿和降血压双重作用的降压药(189)[83]。

187　　188　　189

普齐地洛(prizidino1，190)是β-受体阻断剂普萘洛尔药效团与血管舒张剂肼基哒嗪的拼合物，具有显著降血压作用[84]。

190

两个药物拼合成一个分子可产生新的药理作用，例如全反式维甲酸与维生素E(生育酚)形成的酯，称作 tocoretinate(191)，临床上用作治疗溃疡和褥疮药物[85]。

191

喹诺酮和头孢菌素的拼合物 PGE-7594630(192)对革兰氏阳性菌和阴性菌有广谱抗菌作用，而且对β-内酰胺类耐药的菌株也有抗菌作用[86]。

192

应当指出，用拼合方法设计新药比常规的设计方法困难更大，常常是两个有效药物的拼合生成无活性的化合物，因而成功率较低。例如氯硝地平(nifedipine)与β-受体阻断剂拼合产物失去了原来两种作用，这是因为拼合物与钙通道和β-受体均不能发生分子识别和结合作用。另外，拼合的两部分的活性强度的匹配也是孪药设计的难点，对两个受体分别呈激动和(或)拮抗作用的拼合物，往往很难在作用强度上达到适配：例如拮抗剂所需浓度(nmo1)大大低于激动剂用量(μmo1)，因而一对一的拼合往往会造成对一个靶标有效而对另一个无效或对一个靶标有效时另一靶标已超量的局面。受体激动剂或拮抗剂与酶抑制剂的拼合，不仅存在剂量(浓度)适配问题，而且药代动力学的要求也是不同的。关于用拼合方法设计双靶标作用的药物，将于第 12 章深入讨论。

11.3.1.3　局部修饰

先导物优化进行的结构改造，更多的是作局部修饰(local manipulation)。局部修饰遵循了优化中的“结构改变最小原则”，以渐进的方式避免活性的突然消失。局部修饰的内容包括柔性-刚性的变换，增加或减少饱和碳数的同系化合物，链状化合物闭环或环状化合物开环，引入双键或手性中心以及引入、除去或取代有空间障碍的大体积基团，或改变分子的物理和化学性质，例如引入或去掉功能基，功能基的电子等排变换，基团位置或方向的改变，改变分子的电荷分布或状态等。

1. 同系物变换

先导物中烷基链的延长或缩短，得到高或低同系物，是最常用的设计方法，先导物中引入甲基，特别是在氮、氧原子或芳环上取代氢原子，往往比烷基链的

延长或缩短对生物活性影响更大，这是因为会改变氢键的形成，位阻的增加，电性的变化，构象以及代谢样式的改变，因而使药效学和药代动力学有明显的不同。

增加碳原子数，会因化合物系列的不同或活性特征的不同而改变，无固定的规律。例如α-羟基苯乙酸酯由甲酯(C_1)到庚酯(C_7)对豚鼠离体肠的解痉作用随碳原子数增加而增强。不过这种直线上升的相关性是不会无限延长的，否则会得到无限强效的解痉药。事实上，进一步增加碳数会降低活性，以碳原子数与活性强度作图，形成了抛物线形曲线，C_1~C_7 酯处在曲线的上升阶段。对乙酰胆碱受体有亲和性的$(CH_3)_3N^+$-$(CH_2)_n$-$N^+(CH_3)_3$类化合物，当 n=5 或 6 时，为胆碱受体激动剂；n=10 的化合物则成为拮抗剂。

烷基链碳原子的奇数和偶数之间有时对活性有交替的影响，例如 6-甲氧基-8-(二甲胺烷胺基)喹啉(193)的抗疟作用，两氮原子间为五、七、九亚甲基化合物的活性比相应的六、八、十亚甲基的活性高。这种锯齿状的活性变化，也发生在取代的羟基苯乙酮(194)对白三烯 B_4 的拮抗作用：n=3~7 时奇数碳化合物的拮抗活性显著强于相邻的偶数的碳化合物(表 11-2)[87]。

H3CO　N　H3C　N-(CH2)n—NH　H3C

193

O　OH　H3C　O-(CH2)n-C-　CH3　N-N　N　N　H　C2H5

194

表 11-2　化合物 194 侧链的碳原子数对白三烯 B4 拮抗作用的影响

n	0.1μmol/L 化合物抑制[^{3}H]-LTD$_4$与受体结合的百分数
3	28
4	14
5	56
6	13
7	49

有时含低数碳链和高碳数链的作用样式会完全相反，例如去甲肾上腺素氮原子上一个氢被甲、乙、正丙基取代，升压作用依次下降，同时乙基和丙基取代的化合物出现较弱的降压作用，随着被异丙基、正丁基和异丁基取代，化合物升压作用消失，而降压作用依次增强。表 11-3 为不同烷基取代的肾上腺素与血压的关系。

表 11-3　*N*-烷基取代(R)的肾上腺素对血压的影响

R	H	CH_3	C_2H_5	C_3H_7	$CH(CH_3)_2$	C_4H_9	$CH_2CH(CH_3)_2$
升压作用	++	++	+	−	−	−	−
降压作用	−	−	+	+	++	++	−

这种现象可解释为去甲肾上腺素衍生物可与α-和β-肾上腺能受体亚型相结合，体积较小的 R 基可同时与α和β-受体结合；而体积大的烷基只与β-受体结合。

2. 开环

先导物含有环系时，可将环打开成链状类似物，也可将环缩小或扩大。开环类似物可在体内经氧化或失水等反应又环合成原环状物而起效，这时开环物实际是生物前体(bioprecursor)或前药(prodrug)。醛甾酮受体拮抗剂坎利酮(canrenone，196)的 D 环相连的螺内酯开环成γ-羟基酸钾盐，为坎利酸钾(potassium canrenoate，195)，是水溶性前药，可注射用药。坎利酸钾本身虽无活性，但在体内可环合成内酯，呈现利尿作用。

195　　196

氯胍(proguanil，197)体外试验对疟原虫无抗疟作用，但到体内或用血清处理后而呈现活性，是由于环合成环氯胍(cycloguanil，198)的缘故。环氯胍虽是活性成分，但很容易被肾脏消除，而其开环物氯胍的半衰期较长。氯胍可认为是生物前体药物。

197　　198

非环化合物若构象类似于环状物，可呈现相似活性。经典的实例是由雌二醇(estradiol，199)开环成雌激素受体激动剂阿仑雌酚(allenestrol，200)和己烯雌酚(diethylstilbestrol，201)。这两个开环物的优势构象(构型)与雌二醇相似，羟基(或羧基)所处的空间位置对应于雌二醇的 3, 17-二羟基，与受体相结合。

199　　200　　201

培高利特(pergolide，202)为含吲哚的四环稠合物，是多巴胺受体激动剂，用于治疗精神分裂症。其开环物 3-(3-羟苯基)-*N*-正丙基哌啶((±)-3-PPP，203)选择性作用于中枢多巴胺受体，临床用于治疗精神病。

202　　203

开环的分子操作有时会降低药理活性，例如色满卡林(cromakalim，204)为钾离子通道开放剂，用于抗过敏和支气管解痉药。4 位内酰胺环用 *N*-乙基乙酰胺基代替(205)，分子柔性增加，减少了与受体结合的概率，因而降压作用减弱 60%[88]。

204　　205

α-受体激动剂可乐定(clonidine，206)，打开四氢咪唑环得到司可可乐定(seco-clonidine，207)，降压作用降低 30 倍[89]。

206 207

3. 关环

开链结构进行环合是先导物优化的常见方法，由于形成环状结构，减少了柔性键的自由旋转，限制了分子的构象，因而用这种操作可推断药物的活性构象，增加活性构象的比例，但也会因为环合带来了立体异构现象。诺氟沙星(norfloxacin，208)为抑制细菌解旋酶(gyrase)的强效抗菌药，将 8 位与 1 位烷基环合，得到更高活性的氧氟沙星(ofloxacin)，后者的 *S*-构型称左氟沙星(levofloxacin，209)，抑菌作用强于 *R*-异构体。

208 209

经典的*β*-受体阻断剂由于分子具有柔性而呈现多种药理作用，例如有*β*-受体阻断作用、奎尼丁样作用、局部麻醉和降压作用等。为了提高药物的特异性作用，以苯丙醇胺(phenylpropanolamine，210)为先导物进行结构变换，按照以下不同方式关环：(1)3,4-二氢-3-羟基-6-甲基-l,5-苯并噁嗪(211)为强效*β*-受体阻断剂，它的活性形式并非水解开环成取代的苯乙酮(212)，因为开环物的活性仅为环状物的 l/4[90]；(2)将连接胺基的亚甲基与苯环键合并作适当修饰，得到色满卡林(213)，消除了*β*-受体阻断作用，保留了降血压活性，其作用靶标是钾通道开放剂[91]。

210

212 211 213

中枢神经递质γ-氨基丁酸(GABA，214)是介导中枢神经系统的重要内源性物质，分子中含有 4 个可旋转性键，可采取多种构象。将 2,3-位变成反式双键成反式 4-氨基巴豆酸(215)，或再用亚乙基环合成四氢吡啶环，成为 isoguvacine(216)，都是 GABA 受体激动剂。进一步用环状的羟基异噁唑替代羧基，成为 THIP(217)，是强效的 GABA 激动剂。这种通过双键(可认为是二元环)、六元环和稠合环的关环操作，固定了柔性分子活性构象[92]。

214　215　216　217

其他如镇咳药奥昔拉定(oxeladin，218)和喷托维林(pentoxyverine，219)分别是开环和闭环化合物。

218　219

抗胆碱药曲地碘铵(tridihexethyl iodide，220)和三环氯铵(tricyclamol chloride，221)、抗疟药氯胍和环氯胍也分别是开环和闭环化合物。但开环、闭环的变换也会引起药理作用发生质的变化，例如平喘药麻黄碱(ephedrine，222)的相应环状化合物苯甲吗啉(phenmetrazine，223)是食欲抑制药。

220　221　222　223

4. 引入烯键

生物活性分子中引入双键可有两种方式：一是将饱和链中的某一单键变成双键，另一是加入乙烯基，形成插烯物(vinylogues)。由于引入双键改变了分子的立体化学性质，分子的构型和构象与饱和化合物有较大差别，因此生物活性会发生变化，例如顺式桂皮酸具有植物生长调节作用，而相应的苯丙酸则无此活性。分子中引入双键后也会因物理化学性质的改变而导致其活性受到影响。例如含不饱和键的烯烃的催眠作用强于饱和烷烃。

在分子结构中插入乙烯基，因其“导电子性”，电荷的分布未发生重要变化。例如甲酰基丙酮(224)与乙酰基乙烯醇(225)呈互变异构，乙烯插在乙酰基与羟基中间，犹如乙酰基直接与羟基相连，其酸性与乙酸相当。

224 225

插烯规则可以扩展到其他不饱和体系或芳香共轭体系，例如插入乙炔基、亚胺基、苯基、芳杂环基等。插入不饱和基团虽然对电荷分布的影响较小，但分子长度、形状和立体性质发生改变，还容易发生代谢降解反应，以致比未插烯的原药的活性与毒性有较大的变化。例如哌替啶(226)与其插烯物(227)有相同的镇痛作用，但插烯物的作用时间显著缩短，可能是由于苯乙烯基的双键易被氧化代谢的缘故。普鲁卡因(228)的插烯物(229)仍有局部麻醉作用。

226 227

228 229

甘素(dulcin，230)为对乙氧基苯脲，与乙氧脲(ethoxyurea，231)都是生甜物质，说明苯环对甜味的影响不大。

230 231

普鲁卡因酰胺(232)的插苯物(233)的位置异构影响局部麻醉和抗心律失常作用是不同的，如表 11-4 所示。

232　　233

表 11-4　普鲁卡因酰胺插苯化合物(233)不同位置对生物活性的影响(相对活性)

化合物	局麻作用	抗心律失常作用
普鲁卡因酰胺	1	1
邻位插苯化合物	0	0.17
间位插苯化合物	47	0
对位插苯化合物	35	0

5. 大基团的引入、除去或置换

引入大体积基团会阻碍药物与酶或受体的结合，导致生物活性和代谢模式的改变。例如青霉素和头孢菌素类抗生素分了中引入大体积基团，可阻止β-内酰胺酶对内酰胺环的水解破坏，因而提高了对耐β-内酰胺酶菌作用的抑制活性。向内源性活性物质(例如酶的底物或受体的配体)的结构中引入大基团，可引起分子与受体作用的巨大变化，可由激动剂变成拮抗剂。组胺(234)的咪唑环被二苯甲氧基置换变成苯海拉明(diphenhydramine，235)，由对 H_1 受体的激动作用翻转为拮抗作用，苯海拉明是古老的抗过敏药；反之，若 4-甲基咪唑的侧链修饰成例如甲氰咪胍的长链结构，则由 H_1 受体激动剂变成 H_2 受体阻滞剂，具有抗消化道溃疡的作用。

234　　235

α-肾上腺能激动剂去甲肾上腺素(236)结构中引入大基团，可转变成拮抗剂，例如莫西赛利(moxisylyte，237)为血管扩张药；β-肾上腺能激动剂异丙肾上腺素(isoprenaline，238)的苯环换成萘环，侧链再作适当的修饰，则为β-受体阻断药普萘洛尔(propranolol)。

236　　237　　238

乙酰胆碱(239)的甲基被体积大的三环置换，由激动剂转成拮抗剂普鲁本辛(propatheline，240)，是解痉和抗溃疡药；5-羟色胺(241)是 5-HT 受体激动剂，美吉赛特(methysergide，242) 的稠环结构中含有吲哚乙胺结构，为 5-羟色胺受体拮抗剂，临床治疗偏头痛病。

239　　240　　241　　242

6. 改变基团的电性

基团变化引起分子中电性分布的变化主要经两种效应：诱导效应和共轭效应。这两种电性效应可引起物理和化学性质的深刻变化，对生物活性产生显著影响。由于元素电负性的不同，分子内电子沿着单键移动所产生的静电引力就是诱导效应。吸电子性比氢原子强的基团产生负诱导效应(-I)，这类基团可以是电子接受体；吸电子性比氢弱的基团为正诱导效应(+I)，常为电子给体。

负诱导效应的基团按照吸电子性的强弱依次为：$-NH_3^+$，$-NR_3^+$，$-NO_2$，-CN，-COOH，-COOR，-CHO，-COR，-F，-Cl，-Br，-OH，-OR，-SH，-SR，$-CH=CH_2$，$-CR=CR_2$，-C≡CH；正诱导效应的基团按照推电子性的强弱依次为：$-CH_3$，$-CH_2R$，$-CHR_2$，$-CR_3$，$-COO^-$。

含有共轭双键的化合物由于π电子的离域化导致电子的流动称作共轭效应。能够增加共轭系统电荷密度的基团呈现+R 效应；降低电子密度的基团为-R 效应。负性共轭效应(-R)同时也有负诱导效应，包括以下基团：$-NO_2$，-CN，-CHO，-COR，-CO，-H，$-CO_2R$，$-CONH_2$，$-SO_2R$，$-CF_3$；正性共轭效应(+R)同时也有正诱导效应的基团有：-O-，-S-，$-CH_3$，$-CR_3$；正性共轭效应同时有负诱导效应的基团是：-F，-Cl，-Br，-I，-OH，-OR，-OCOR，-SH，-SR，$-NH_2$，$-NR_2$，-NHCOR。

药物设计中常常把卤素(尤其是氟和氯)原子引入芳香环上，从而改变生物活性。芳香环上引入卤原子产生 3 种效应：立体作用、电性作用和流水作用。苯环对位被 F 或 Cl 占据，可以阻止因生物氧化而形成的环氧化物或羟基，从而可望降低毒性及延长作用时间。

11.3.1.4　电子等排

1. 经典电子等排

电子等排概念(isosterism)最早是 Langmuir 提出的，用来描述具有相同数目和相同电子排布的化合物或基团，认为电子等排体(isosters)之间有相同的物理性质[93]，例如一氧化碳 CO 和氮气 N_2，CO_2 和 N_2O，N_3^-和 NCO^-，CH_2N_2 和 CH_2=CO 之间电子的数目和排布相同，性质相似。

Grimm 于 1925 年提出的氢化物置换规则(hydride-displacement law)扩大了电子等排概念[94]，这个规则认为将 1 个原子与 1 个氢原子结合，生成假原子(pseudoatom)，该假原子与高一个原子序数的原子之间，有相类似的物理性质。表 11-5 列出了药物化学中常用的原子和假原子的关系。例如将一个质子加到 O^{2-}离子的电子外层上，成为 OH^-；设想将该质子加到 O^{2-}的原子核中，则成为氟 F^-同位素离子。在这个意义上质子进入 O^{2-}的电子外层后，可认为被高一个原子序数的 F^-所遮盖，对核外电子层的影响很小。所以，这种氢化物置换的结果，OH^-成为“假氟离子”，二者之间互为电子等排体。后来，Erlenmeyer 再扩展为凡最外层电子数相同的原子、离子或分子都可认为是电子等排体[95]，如表 11-6 所示。

表 11-5　氢化物置换规则电子等排体

总电子数	6	7	8	9	10	11
	C	N	O	F	Ne	Na^+
		CH	NH	OH	FH	-
			CH_2	NH_2	OH_2	FH_2^+
				CH_3	NH_3	OH_3^+
					CH_4	NH_4^+

表 11-6　外层电子数相同的电子等排体

外层电子数	4	5	6	7	8
	N^+	P	S	Cl	ClH
	P^+	As	Se	Br	BrH
		Sb	Te	I	IH
	As^+		PH	SH	SH_2
	Sb^+			PH_2	PH_3

所谓经典的电子等排(classical isosterism)是包括有 Grimm 的氢化物置换规则、Erlenmeyer 定义的周期表中每族中的元素离子和分子等只要最外层电子状态相同

均可认为电子等排体，因而可有一价、二价、三价、四价及成环的等排体，如表 11-7 中所列的基团或片段。

表 11-7 经典的电子等排体

一价原子或基团	二价原子或基团	三价原子	四价原子	成环等排体
F, OH, NH_2, CH_3	-O-	-N=	=C=	-CH=CH-
Cl, SH, PH_2	-S-	-P=	=Si=	-S-
Br	-Se-	-As=	$=N^+=$	-O-
I	-Te-	-CH=	$=P^+=$	-NH-
	-NH-		$=As^+=$	
	$-CH_2-$		$=Sb^+=$	

所以，经典的电子等排概念认为周期表中同一族的元素之间例如碳和硅，氧、硫和硒，以及卤素之间均可视为电子等排体；按照假原子的含义，氟、羟基、氨基和甲基之间互为等排体，卤原子与氰基、硫氰基之间也为等排体。某些芳杂环与苯环之间互为等排体，可用苯与噻吩加以说明。表 11-8 的物理常数表明-CH=CH-与-S-二价等排体的相近性。

表 11-8 苯和噻吩及其类似物的物理常数

(苯环-R)	bp/℃	(噻吩环-R, S)	bp/℃
R=H	80	R=H	84
R=CH_3	110	R=CH_3	113
R=Cl	132	R=Cl	130
R=CH_3CO	200	R=CH_3CO	214

利用经典的电子等排概念进行一价原子或基团变换，设计新药的成功例子很多，例如口服降血糖药氨磺丁脲(carbutamide，243)的氨基被电子等排体甲基或氯置换，分别为甲磺丁脲(tolbutamide，244)和氯磺丙脲(chlorpropamide，245)，由于延长了生物半衰期，成为长效口服降糖药，毒性也相应降低。

243　　244　　245

黄嘌呤(xanthine，246)和鸟嘌呤(guanine，247)的 6-OH 被巯基置换，成为抗癌药巯嘌呤(6-MP，248)和硫鸟嘌呤(thioguanine，249)。这是电子等排体之间底物向抑制剂转变的典型实例。

246　　247　　248　　249

氯霉素分子中硝基和氯原子的电子等排置换可得到不同的合成抗生素，如表 11-9 所示。

表 11-9　氯霉素的电子等排体

化合物	X	Y
氯霉素(chloramphenicol)	NO_2	$CHCl_2$
甲砜霉素(thiamphenicol)	CH_3SO_2	$CHCl_2$
叠氮氯霉素(azidomphenicol)	NO_2	CH_2N_3

二价原子或基团的电子等排在药物设计中常被应用，若它们的键角相近，经它们连接的基团在空间上有相似性，因而有相同或相关的生物活性。例如 H_2 受体阻断剂丁咪胺(burimamide)的-CH-被-S-置换，因电性和构象的变化，生成的甲硫脒特(metiamide)活性更高，进而将硫脲基改变成氰基胍基，开发出著名的甲氰咪胍。

环中-S-、-O-和-CH=CH-等价体的互换，在磺胺类抗菌药中是很普遍的等排现象。青霉素及头孢菌素类半合成抗生素用各种杂环置换苯环，优化出许多优良的抗生素。哌替啶类似物中-O-、-NH-和-CH_2-等排体的镇痛作用均强于哌替啶，而-S-置换体的活性却较弱，可能在体内被氧化成亚砜或砜基使极性加大的缘故。表 11-10 比较了结构与活性的关系。

表 11-10　哌替啶类似物的电子等排体

X	相对镇痛作用
H	1
OPh	12
CH_2Ph	20
NHPh	80
SPh	1.5

抗精神病药奥氮平(olanzapine，250)和洛沙平(loxapine，251)是环内二价等排体的变换，是将-N-换成-O-，苯并二氮䓬与苯并噁氮䓬环互为电子等排体。

250　　251

三价原子或基团的电子等排体常见于环系的更换，例如三环系的精神药物，吲哚美辛及舒林酸的环系变换。非环系统如抗过敏药曲吡那敏(tripelenamine，252)与氯苯那敏(chlorphenamine，253)是氮与次亚甲基的变换。

252　　253

2. 生物电子等排

电子等排概念在药物化学研究中应用非常广泛，前述的定义不能完全包括和解释同类药物间的结构相关性，Friedman 提出生物电子等排(bioisosterism)[96]进一步扩展了电子等排的含义和内容。生物电子等排学说认为，具有相似的物理及化学性质的基团、片段或分子产生大致相似的或相关的或相反的生物活性。分子或基团的外电子层相似，或电子密度有相似分布，而且分子的形状或大小相似时，都可认为是生物电子等排体，或称作非经典的电子等排体(nonclassical isosters)。

在进行生物电子等排置换时，基团的变换应考虑以下方面：基团的大小和形状，包括键角、基团的长度和轨道杂化的相似性；电性分布，包括可极化性、诱导效应、电荷密度和分布以及偶极性等；脂溶性、水溶性、pK_a、化学反应性和代谢方式的相似性，以及氢键的形成能力等。这样变换的结果可得到相同或相似生

物活性的化合物，也可能生成药理作用相反的化合物。电子等排置换引起激动-拮抗作用的翻转的例子很多，许多抗代谢物、抗维生素和抗激素物质往往因生物电子等排体的置换而产生。

硅原子置换碳原子也是常见的电子等排操作，例如胆碱、巴比妥、青霉素和甲丙氨酯等药物的硅元素置换，仍保持原来的生物活性。表 11-11 列出了常用的生物电子等排体，在每一行中的基团都是互为电子等排体。

表 11-11　常用的生物电子等排体

生物电子等排体
OH　NHCOR　$NHSO_2R$　CH_2OH　$NHCONH_2$　NHCN　$CH(CN)_2$
F　Cl　Br　I　CF_3　CN　$N(CN)_2$　$C(CN)_3$
–O–　–S–　–N(CN)–　–C(CN)(CN)–
>C=O　>C=C(CN)(CN)　>S=O　>S(=O)(=O)　$-SO_2NR-$　–CONR–　–CH(CN)–
$-CONHSO_2R$　四唑基（N—N, N, N, N–H）　3-羟基异噁唑基（OH, O–N）　羟基吡唑基（OH, N, N–H）　噁二唑烷二酮基（O, NH, N, O, O）　羟基吡喃酮基（O, OH, O）
$-CONHSO_2R$　四唑基（N—N, N, N, N–H）　3-羟基异噁唑基（OH, O–N）　羟基吡唑基（OH, N, N–H）　噁二唑烷二酮基（O, NH, N, O, O）　羟基吡喃酮基（O, OH, O）
$-NHC(=S)NH_2$　$-NHC(=NCN)NH_2$　$-NHC(=CHNO_2)NH_2$
邻苯二酚（OH, OH）　苯并咪唑（N, N–H）　羟基吡喃酮（O, O, OH）　羟基吡啶酮（H·N, O, OH）　N-羟基吡啶酮（O, N–OH）
吡啶（N）　硝基苯（NO_2）　吡啶鎓（N^+–H）　$^+NR_3$ 苯
对亚苯基　共轭多烯链　烷基链
ATP 类似物（$^-O-P(O^-)(=O)-X-P(O^-)(=O)-O-P(O^-)(=O)-O-$核糖（OH, OH））　X = O　ATP X = –CH=CH–　–C≡C–　–O–O–

在模拟创新药物(follow-on drug)的设计和构效关系研究中，电子等排是经常使用的概念，下面列举一些实例进一步说明这一原理的应用。

(1) 羧基的替代物　羧基的电子等排体可分为链状和环状结构，两者的共同特点是都含有可离解的氢原子。链状的等排体一般为羧酸衍生物，例如羟肟酸。异丁普生(ibuproxam，254)是用羟肟酸替换布洛芬(ibuprofen，255)分子中的羧基，异丁普生在体内代谢成布洛芬，所以可认为是布洛芬的前药[97]。然而，另一个非甾体抗炎药奥沙美辛(oxametacin，256)与吲哚美辛(indomethacin，257)虽也是羟肟酸与羧酸的等排置换，但在体内不转化成吲哚美辛，所以是真正的等排体[98]。

体内转化

254　　255

体内不能转化

256　　257

羧基的环状电子等排体最常见的是四氮唑[99]。氨丙基四唑(258)是γ-氨基丁酸的等排物，为 GABA 转氨酶抑制剂，它不抑制琥珀酸半醛脱氢酶(SSA-DH)的活性。而丙戊酸的羧基被四唑置换，生成的二正丙基甲基四唑(259)是 SSA-DH 的抑制剂，二正丙基甲基噁二唑二酮(260)也是丙戊酸的电子等排体，噁二唑二酮含有一个酸性氢原子。

258　　259　　260

肽类药物的碳端氨基酸残基的羧基可用-OSO_3H 代替，*O*-硫酸酯可认为是羧基的生物电子等排体。例如天冬氨酸残基(261)与丝氨酸硫酸单酯(262)为等排体，胃泌素四肽的碳端天冬氨酸被 *O*-硫酸酯基置换仍有活性；七肽的肠促胰酶肽碳端被丝氨酸或苏氨酸的 *O*-硫酸酯置换，仍保持酶活性。氨基酸(263)的羧基可用磷酸

或亚膦酸置换(264)，如鸟氨酸的羧基被磷酸置换，可抑制大鼠肝鸟氨酸脱羧酶的活性。

261　262　263　264

缩胆囊素(CCA)受体拮抗剂(265)的羧基可被各种环状或链状电子等排体置换，由于改变了 pK_a、电荷分布和几何形状，使对 CCK-A 与 CCK-B 受体拮抗作用发生程度不同的变化，调整了化合物的选择性[100]。

265

(2) 环替代物　杂环之间互为电子等排进行优化设计的成功实例很多。例如组胺 H_2 受体拮抗剂西咪替丁(cimetidine，266)、雷尼替丁(ranitidine，267)、法莫替丁(famotidine，268)、罗沙替丁(roxatidine，269)等药物的创制，是成功的范例[101]。

266　267

268　269

雌激素受体拮抗剂他莫昔芬(tamoxifen，270)苯环被苯并噻吩替代，成为雷洛昔芬(raloxifen，271)，均为抗雌激素药物，雷洛昔芬由于特异性分布，主要用于治疗骨质疏松病。

270　　271

杂环电子等排体的变换虽无固定的模式，但一般应考虑芳香环的平面性、电性和氢键形成等特征的相似性。简易的方法是比较杂环的沸点，因为沸点与分子的偶极矩有相关性。例如，哒嗪与 1,2,4-三嗪和 1,3,4-噻二唑的沸点相近，分别为 208℃、200℃和 204℃；而嘧啶和吡嗪的沸点为 123℃和 115℃，与哒嗪沸点相差较远，两组之间的药理作用有区别：含苯基哒嗪的化合物(272)以及 1,2,4-三嗪和 1,3,4-噻二唑对中枢神经系统有活性，而嘧啶和吡嗪无活性。

用量子化学计算杂环的表面静电势的相近性，也是设计电子等排体的一种方法，例如抗雄激素药物扎诺特隆(zonoterone，273)分子中的吡唑环用表面静电势相近的呋喃、噻唑和噁唑环置换的化合物具有抗雄激素活性，而静电势差别较大的噻吩和嘧啶无活性。

272　　273

有效等排体　　有效等排体

无效等排体　　无效等排体

苯环上两个取代基之间形成分子内氢键，构成“假环系”，可认为是芳杂环的电子等排体。例如抗精神分裂作用的邻甲氧基苯甲酰胺化合物(274)的分子内氢键形成的环，相似于多巴胺的苯环，可与受体结合；利尿药阿米洛利(amiloride，275)的酰基与胍基氢形成的氢键构成了第 2 个杂环系，从而合成了噁二唑化合物(276)，后者仍有利尿作用。

274　　275　　276

芳香环上氟原子与邻位侧键上羟基之间存在静电排斥作用，例如氟苯乙胺化合物的优势构象(277)可能与去甲肾上腺素(278)相近，进而合成的环状化合物(279，280)具有肾上腺能作用。

277　　278　　279　　280

(3) 邻酚基替代物　阿扑吗啡(apomorphine，281)中的邻二酚基可被各种杂环置换，如培高利特(pergolide，282)结构中具有刚性吡咯乙胺片段，与阿扑吗啡刚性的儿茶酚胺片段相对应，是多巴胺受体激动剂。培高利特的吲哚环也可认为是儿茶酚胺的“间位”羟基的生物电子等排体；降压药罗匹尼罗(ropinirole，283)和喹吡罗(quinpirole，284)均为多巴胺受体激动剂。

281　　282　　283　　284

11.3.2　超热力学优化方法

11.3.2.1　Topliss 决策法

由先导化合物出发，设计合成类似物，希望在早期阶段获得最佳化合物，以提高优化效率。Topliss 根据 Hansch-藤田分析的原理，认为取代基的引入或变换可使化合物的疏水性、电性和立体性发生改变，是生物活性变化的结构基础。在未知受体结构的情况下，根据化合物的结构变化(基团的疏水性、电性和立体性等)引起活性增减的趋势，指导新化合物的设计与合成。1972 年提出了一种非数学非统计学的、不用计算机辅助的分子设计方法[102]。

这种操作适用于合成速度慢而生物学评价反馈快的复杂化合物的设计。按照 Topliss 方法，每合成出一个化合物，即进行活性评价，根据变化的大小，决定下一个化合物的合成，所以称作 Topliss 决策法(Topliss decision tree method)。决策过程的每一步骤，综合了超热力学原理中疏水性、电性和立体性等因素，每合成出

一个化合物，将其活性与上一个化合物进行比较，犹如摸着石头过河，以物理化学性质引导下一个化合物的决策。

Topliss 方法按决策树所示的顺序进行操作。芳香环上的取代基变换依照图 11-7、脂肪链上的类似物变换按图 11-8 进行。现以芳香环上设计类似物为例，说明这种决策方法是怎样进行的。

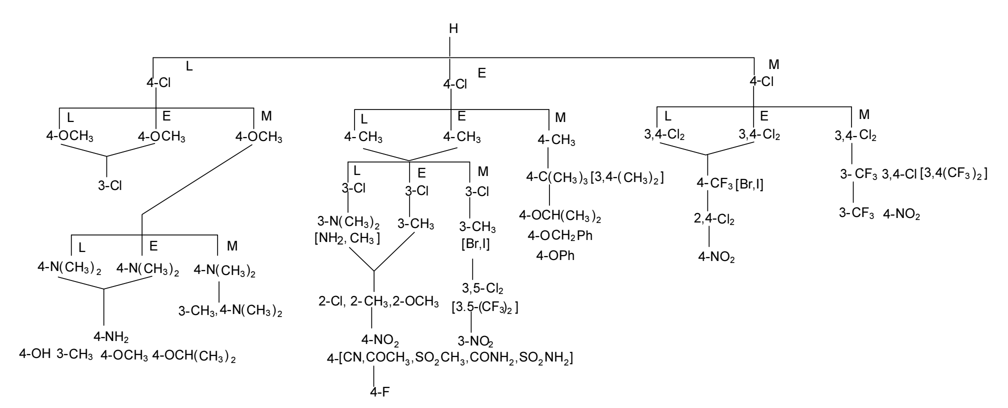


图 11-7　芳香环上取代基变换的操作图

M：活性高；E：活性相同；L：活性低

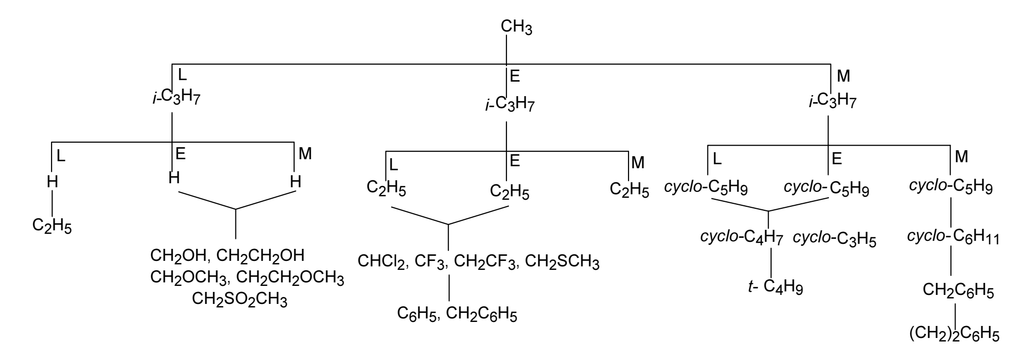


图 11-8　脂肪链上取代基变换的操作图

M：活性高；E：活性相同；L：活性低

假定初始化合物是未取代的母体物 H，并测定了活性。由于许多药物-生物系统作用的关系依赖于$+\pi$效应，即随着疏水性(或亲脂性)增高而活性加大，所以，首先选定合成具有$+\pi$的类似物 4-Cl，同时也因为 4-Cl 化合物容易合成。测定 4-Cl 的活性。若它的活性强于母体物 H，则可能是由于$+\pi$效应或$+\sigma$(拉电子)效应，或者是$+\pi+\sigma$综合效应，即$+\pi$和$+\sigma$均会使活性增高，因而应再引入 1 个氯原子，即合成 3,4-二氯化合物。

3,4-$(Cl)_2$ 的π值和σ值都增加了，而且从合成化学的立场也容易合成。如果

3,4-$(Cl)_2$ 活性比 4-Cl 高，表明活性的增加是提高了疏水性和拉电子效应所致，下一轮应设计合成$+\pi$和$+\sigma$值更高的化合物，即 3-CF_3-4-Cl 或 3,4-$(CF_3)_2$ 化合物。这两个化合物的$\Sigma(+\pi)$和$\Sigma(+\sigma)$都增大了。如果活性比 3,4-$(C1)_2$ 高，则合成 3-CF_3-4-NO_2。

若 3,4-$(Cl)_2$ 的活性等于或低于 4-Cl，可能是由于 3 位取代产生了不利的空间位阻，也可能是π或σ值超过了最适值。为此，宜合成 4-CF_3 化合物，4-CF_3 保持了较高的σ值，亲脂性比 4-Cl 强，但比 3,4-$(Cl)_2$ 弱，而且也没有 3 位的立体障碍。除 4-CF_3 外，还可以选择 4-Br 或 4-I 化合物。3,4-$(Cl)_2$ 的活性降低也可能是 3 位取代不利于同受体结合，则可合成 2,4-$(Cl)_2$ 化合物。它的$+\pi$和$+\sigma$值大体与 3,4-$(Cl)_2$ 相同，但没有 3 位取代基的立体因素。最后是 4-NO_2，硝基的电性$(+\sigma)$比疏水性$(+\pi)$的作用显著。如果 4-NO_2 的活性增高，是因为与 3-CF_3 相比$+\sigma$值增大，$+\pi$值减小有利于提高活性。

再回到 4-Cl 化合物。若 4-Cl 活性与母体物 H 相同，可能是因为适宜的$+\pi$效应和不适宜的$+\sigma$效应(即$+\sigma$值增大，活性降低)。若这种判断是正确的，则应合成 4-CH_3，它有$+\pi$和$-\sigma$效应。若 4-CH_3 活性增高，继续加大$+\pi-\sigma$效应，即 4-*t*-Bu。若对位叔丁基因立体因素不利于活性，可合成 3,4-$(CH_3)_2$ 化合物。最后还可以合成 4-异丙氧基、4-苄氧基或 4-苯氧基，这些都有较高的$+\pi$和较低的σ值。

如果引入的 4-CH_3 活性等于或低于 4-Cl，这可能是因为对位取代基不利的立体效应所致，也可能是$-\pi$效应。但$-\pi$效应是随着疏水性增加活性降低，这种现象是比较少见的，因而 4-CH_3 未增加活性很可能是因为对位取代基的立体障碍。为此，下一步应合成 3-Cl 化合物，3-Cl 与 H 相比，有较高的π和σ值，但对位未被占据。假定 3-C1 的活性增高，下一步按照如同 4-CF_3 路径，以同样的理由向下合成，只是取代基都在 3 位。但若 3-Cl 的活性未提高，可归咎于$+\pi+\sigma$效应所致。活性的提高可能需要较高的π值和较低的σ值，因而应合成 3-CH_3，它是$+\pi-\sigma$基团。若 3-CH_3 化合物活性没有变化，则应合成邻位取代基，如 2-Cl、2-CH_3 或 2-OCH_3。

若 4-Cl、4-CH_3、3-Cl、3-CH_3 及邻位取代基与 4-Cl 相比都不能增高活性，则$+\sigma$及较小的π效应可能有利于活性，因而宜合成 4-NO_2，它是$-\pi+\sigma$基团，与前面合成过的相反效应$(+\pi-\sigma)$的取代的化合物活性加以比较，来判断究竟是什么效应会使活性提高。除 4-NO_2 外，还可合成 4-CN、4-$COCH_3$、4-SO_2CH_3、4-$CONH_2$ 和 4-SO_2NH_2。若$-\pi+\sigma$基团仍使活性增高，表明优选的$+\pi-\sigma$值起作用，下一步宜合成 4-F。此时与母体物 H 相比，4-F 的π和σ值变化不大。若母体化合物 H 已是合适的π及σ值，而且在体内会因生物转化在 4 位被羟基化时，应合成 4-F 化合物。

再回到 3-Cl 化合物。若 3-Cl 的活性比 4-CH_3 低，表明$-\sigma$效应起主导作用，

即随着推电子作用的增强(σ值降低)活性提高，下一步应合成 3-$N(CH_3)_2$、3-NH_2 或 3-CH_3。在这个方向上下一步再合成 2 位取代基。

如果 4-Cl 化合物比母体化合物 H 的活性低，则可能是由于 4 位取代基的立体障碍或是π值的增高或是吸电子性增强引起了活性下降。假定此时$-\sigma$效应起主导作用(即随着σ值降低而活性增高)。应于 4 位引入 OCH_3。若 4-OCH_3 与母体化合物 H 相比增高了活性，则应合成σ值更低的 4-$N(CH_3)_2$，并最终合成 3-CH_3,4-$N(CH_3)_2$ 化合物。

若二甲胺基化合物的活性未变或降低，可能是因为π效应所致，因此宜合成 4-NH_2 或 4-OH 化合物; 如果是由于二甲胺基的碱性发生了离解作用或影响了与受体部位的相互作用，成为不利的因素，则应合成 3-CH_3，4-OCH_3 或 4-$OCH(CH_3)_2$ 化合物。

再回到 4-OCH_3 化合物。若与 4-Cl 相比，活性相同或降低，表明 4 位取代基有不利影响。应合成 3-Cl，从而回到了前述的途径。

先导化合物的侧链优化操作程式与上述的过程相似，当功能基团如羰基(-COR)、胺基(-NHR)或酰胺基(-CONHR)等 R 基团作各种变换时，也可使用如图 11-8 所示的程式。

当起始化合物的侧链为甲基取代时，假定活性随着疏水性π值增大而提高，则首先以异丙基置换甲基，如果活性增高，改换成环戊基，环戊基与异丙基比较π值增大而空间效应变化不大。环烷基的优点是对空间效应影响较小，但有较强的疏水作用。此后还可以合成苄基或苯乙基。苄基与环己基的π值相近，电性σ也无明显变化。

如果改换成环戊基后活性未能提高，可能是由于π值超过了最适值，这时宜合成 E_s 值和π值均较低的环丁基或环丙甲基。环戊基未能引起活性提高的另一种解释是π值对活性影响较小，而σ^*值降低却使活性增高。在这种情况下宜合成叔丁基，前提是空间效应较小。

异丙基换成环戊基若导致活性下降，可认为异丙基已接近最适疏水性，因而宜合成正丙基或环丙基。

如果异丙基置换甲基后活性未能提高，可能是中等大小的π值有较高的活性，故改换成乙基。若乙基未使活性增高，甚至使活性下降，这一定是方向相反的电性起作用的结果，为此，合成有$+\sigma^*$效应的-$CHCl_2$、-CF_3、-CH_2CF_3 或-CH_2SCH_3 等基团，最后可合成苯基或苄基，两者的π和σ^*值均高于乙基。

如果异丙基的引入使活性下降，说明这种变换引起的π、σ^*或 E_s(或它们的组合)变化是方向性错误，这时应回到无取代的 H 化合物以代替甲基。若 H 化合物活性高于或等于异丙基，则宜引入低π值和$+\sigma^*$值的基团，如-CH_2OH、

$-CH_2CH_2OH$、$-CH_2OCH_3$、$-CH_2CH_2OCH_3$和$-CH_2SO_2CH_3$等。但若 H 化合物的活性低于异丙基，则可认为最适宜的疏水性介于甲基和异丙基之间，应考虑乙基，而且乙基的立体性可能优于异丙基。

Topliss 和 Martin 为了验证上述操作的实用性，对某些实例进行了回顾性研究。表 11-12 和表 11-13 是两种在苯环上进行优化设计的实例[103]。表中化合物的活性按递增顺序排列。对 28 个取代的苯基四唑基丙酸进行优化合成，按 Topliss 决策法，在第 4 步时就可找到活性最高的化合物，第 6 和第 8 步时进一步证实了这个结果。

表 11-12　取代的苯基四唑基丙酸的抗炎活性

R	活性	合成序号	R	活性	合成序号	R	活性	合成序号
$3-NH_2$	0.3		$3-N=NC_6H_5$	4.8		$3,4-(Cl)_2$	7.9	
3-NHAc	1.1		$4-OCH_3$	4.9		H	8.2	1
$4-NO_2$	1.1		4-OH	5.0		3-I	8.1	7
2-OH	1.4		$4-SO_2NH_2$	5.2		4-Br	9.2	
$2,6-(Cl)_2$	1.4		$3-CF_3$	5.7	5	$3,5-(Cl)_2$	11.1	8
$3,5-(Br)_2$	2.6		4-C1	5.9	2	3-F	11.2	
$4-CH_3$	3.1	3	$3-NO_2$	6.0	9	3-Cl	11.2	4
$4-COCH_3$	3.2		$3,5-(NO_2)_2$	6.0		3-Br	11.2	6
$3,4-(OCH_3)_2$	3.5		4-F	6.4				
$4-CH_3$	3.7		$3-CH_3$	7.9				

表 11-13　取代苯基磺胺的利尿作用的结构与活性数据[104]

R	活性	合成序号	R	活性	合成序号
$4-NHCH_3$	−0.301		4-C1	0.301	2
$4-NH_2$	−0.200		3-C1	0.318	
H	0.155	1	$3-NO_2-4-C1$	0.324	
$3-CH_3$	0.176		$4-COCH_3$	0.462	
$4-CH_3$	0.182		$3-NO_2$	0.690	
$4-OCH_3$	0.238		$4-NO_2$	0.845	5
4-Br	0.267	4	4-CN	1.020	6
$3,4-(Cl)_2$	0.267	3			

2-烷基-3-羟基-1,4-萘醌的抗疟作用也可用 Topliss 决策法作回顾性说明。这类化合物共合成了 295 个，但只有 18 个化合物的有效剂量 ED_{95}≤7 mg/kg。按照图 11-7 的操作程式，第 5 个化合物即环己基已达到显著抗疟活性(表 11-14)。而在 295 个化合物中只有一个化合物即 4′-环己基衍生物的活性高于 7.0 mg/kg (ED_{50}=0.6 mg/kg)。[105]

表 11-14　取代的萘醌的抗疟活性

R	ED_{50}/(mg/kg)
CH_3	>400
$CH(CH_3)_2$	175
cyclo-C_5H_9	26
cyclo-C_6H_{11}	7
$C_6H_5CH_2$	>140

11.3.2.2　斐波那契寻查法

斐波那契寻查法是另一种不用计算机辅助的优化活性的简单方法，是 Bustard 于 1974 年将斐波那契寻查(Fibonacci search)用于设计并合成具有不同长度的烷基链化合物，以比较少的合成数目寻查出具有高活性的化合物[106]。

应用本法首先需确定要寻查的链长范围，或称寻查空间。例如 C_1~C_{12}，最高活性的化合物大概应在此范围内。首先合成的是中间的两个化合物，并比较其生物活性。活性较高的化合物一侧作为新的寻查空间，最高活性化合物应包含在该缩小的空间中。然后在这个范围内再确定两个化合物，合成并评价活性后，再把包含较高活性的一侧作为进一步收缩寻查的空间。如此操作会找到最大活性的化合物。每一次操作后得到的新空间大约缩减了一半。操作中，每次选定的空间范围和选择的化合物，需严格按照斐波那契数列及规定操作。该数列为 1、2、3、5、8、13、21、34、…，其规律是从 3 开始每个数是前两个数之和。

假定我们考察系列化合物 R-$(CH_2)_x$-R′，变量 x 决定活性 y 的强度，并认为活性最高的化合物在 x=0~5 的范围内。优化过程即寻查最大活性的操作步长为 1 时，该系列的空间内有 4 个点(即 4 个化合物：x =1,2,3 和 4)。根据斐波那契寻查规则，首先选择 x =2 和 x =3 两个化合物进行合成并作生物评价，得到 y(2)和 y (3)。若 y (2)

大于 $y(3)$，则最大活性应处于 x=0~3 的空间中；反之，若 $y(3)$大于 $y(2)$，则最大活性在 x=2~5 的范围内，如图 11-9 所示。

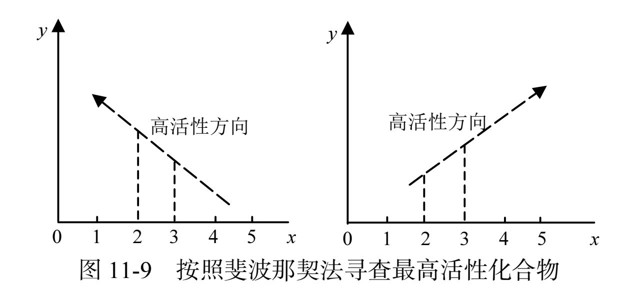


图 11-9　按照斐波那契法寻查最高活性化合物

经过这两个化合物的比较，指示了进一步合成的方向，并把原来的寻查空间缩小到只剩有两个内部点的空间了。

按照斐波那契寻查规则，x 值的范围应永远由 x=0 和 x=某个斐波那契数所决定。表 11-15 列出了各种的寻查空间，各个空间内点数(即化合物数目)，要评价的号数以及各空间内找到最高活性化合物所需合成的数目。

表 11-15　斐波那契寻查的规则

斐波那契法空间(0~x)	空间内点数	空间内首先研究的编号(化合物)	找到最高活性需合成的数目
x=3	2	1 和 2	2
5	4	2 和 3	3
8	7	3 和 5	4
13	12	5 和 8	5
21	20	8 和 13	6
34	33	13 和 21	7
…	…	…	…
…	…	…	…

在上例中 x=0~5，寻查空间内有 4 个点，首轮合成的化合物为 No. 2 和 No. 3。若 $x(3)$大于 $y(2)$，寻查范围收缩为 x=2~5，原空间的 x=2 为新空间的 0，新的斐波那契数为 1、2、3，相应于 x=3、4 和 5。新的寻查空间内有 2 个点，根据规则，应比较 No.1 和 2(即 x=3 和 x=4 的化合物)，因 x=3 化合物已被合成和评价，故第二轮只需合成 x=4 化合物。假如 $y(4)>y(3)$，则最大活性应于 x=3~5，因此是 x=4；反之，若 $y(4)<y(3)$，最大活性应于 x=2~4，因此是 x=3。现举实例说明斐波那契寻查法的操作过程[107]。具有杀菌作用的烷基铵类同系物，其活性强度与烷基链长度有关。表 11-16 列出了 C_8 到 C_{19} 的碳链长度变化与活性值。

表 11-16　各种 *N*-苄基-*N*,*N*-二甲基烷基铵的生物活性

斐波那契编号(No.)	R	生物活性	斐波那契编号(No.)	R	生物活性
0	C_7	—	7	C_{14}	5.12
1	C_8	3.00	8	C_{15}	5.14
2	C_9	3.02	9	C_{16}	5.16
3	C_{10}	3.57	10	C_{17}	4.70
4	C_{11}	4.06	11	C_{18}	4.71
5	C_{12}	4.61	12	C_{19}	4.73
6	C_{13}	5.10	13	C_{20}	—

Bustard 通过回顾性研究指出，最大活性化合物 C_{16} 可用斐波那契法很快地找出。由 C_7 到 C_{20} 的化合物斐波那契编号为 0~13，寻查空间内有 12 个点，按表 11-15 规定，首轮合成的两个化合物是 No.5 和 8，即 C_{12} 和 C_{15}。C_{15} 比 C_{12} 活性高，表明更高活性的化合物应在较长链的 C_{12}(No.5)到 C_{20}(No.13)空间中。将 C_{12} 作为新一轮寻查空间的 No.0，C_{20} 为 No.8，新一轮寻查空间内有 7 个点，按照规定，第二轮应比较 No. 3(C_{15}，相当于原空间的 No.8)和 No.5(C_{17}，相当于原空间的 No.10)的活性，因 C_{15} 的活性已知，C_{17} 活性低于 C_{15}，这样，寻查空间缩小为 C_{12}~C_{17}。再进行斐波那契编号为 0~5(相当于 C_{12}~C_{17})，按规定比较 No.2 和 3(相应于 C_{14} 和 C_{15})的活性，C_{14} 活性低于 C_{15}，因而将第四轮的寻查空间缩小到 C_{14}~C_{17}，新的斐波那契编号为 0~3，比较新一轮编号 No.1(C_{15})和 No.2(C_{16})的活性，C_{16} 活性高于 C_{15}，故最大活性应于 C_{15}~C_{17}，因此必然是 C_{16}。由以上叙述可以看出，在 14 个化合物中只需 4 步操作，合成并评价 5 个化合物，即可优化出最高活性的化合物。

斐波那契寻查法并不只限于链状化合物的优化设计。同系列化合物数目越多，用本法的效果越好。化合物的生物活性若与分子中 CH_2 或 CH_3 的数目成比例关系，则该法还适用于多烷基取代、支链烷基及环烷基取代。唯一的前提是最大活性的化合物应包含在寻查空间中。如果分子的某种性质是生物活性的主要因素，并且有最大值，也可用这种方法找到最大活性的化合物。甚至是某种性质的加和或是不同性质的组合作为变量参数，例如用 $\sum\pi$、$\sum\sigma$、R_m 或 E_s 等，也可按数值大小顺序排列后进行斐波那契编号与寻查。为了满足某个数，也可以加入虚设的化合物，以达到寻查规则的要求。在前例的表 11-16 中的 C_7 和 C_{20} 就是两个虚设的分子。这种分子当然只是为了占据位置，没有参数描述。寻查的步长仍然是固定的，

但不再是有关的分子的单个性质了。用组合参数进行寻查的前提，是应对作用机制有一定的了解或设定，以便得到良好的结果。如果将不适当的分子性质作为编码的基础，会造成错误的导向和结果。组合参数作为变量显然扩大了斐波那契法的应用范围，因为所有的参数都可作为寻查操作的尺度，但这些参数在组合时会出现增强效应，常常会有多个最大值，却又不是绝对的最大值，这是组合参数的缺点。如果了解作用机制，进行适当的参数组合，就有可能找到最高活性的化合物。

Seydel 等用组合参数作为变量，研究了 2 位取代的异烟肼的抗菌作用[108]。随着吡啶环碱性(pK_a)加大，活性增高，而 2 位基团的空间效应加大(以 R 基的范德华体积 V_w 表示)，活性降低。基于此，将(pK_a–0.1V_w)作为化合物的组合参数，由小到大排列后列于表 11-19 中。进行回顾性寻查的过程如下：①由于化合物的数目不够，加入 3 个虚设的化合物，共 21 个数据点，作为第一轮编号；②比较 No.8 和 13 的活性，No.13 比 No.8 的活性高，因而最大活性应在 No.8~No.21 空间内；③第 2 轮编号，新的寻查空间为 No.8~N0.13，比较 No.5 和 8(即表 11-17 中化合物 13 和化合物 16)的活性，化合物 13 已经测定，现化合物 16 的活性大于化合物 13，因而最大活性应在化合物 13~21 的空间内；④第 3 轮编号，新的寻查空间为 No.0~No.8。比较 No.3 和 5(相应于表 11-17 中化合物 16 和 18)的活性，化合物 16 已经测定，现 16 的活性大于 18，因而最大活性应在化合物 13 到 18 的空间内；⑤第 4 轮编号，新的寻查空间为 No.0~No.5，比较 No.2 和 3(相应于表 11-17 中化合物 15 和 16)的活性，化合物 16 已经测定，现 16 的活性比 15 大。因而最大活性应在化合物 15~18 的空间内；⑥第 5 轮编号，新的寻查空间为 No.0~3，比较 No.1 和 2(相应于表 11-17 中的化合物 16 和 17)的活性，17 的活性大于 16，因而最大活性在 16 到 18，即 17 是最高活性的化合物。

表 11-17　2-取代的异烟肼的抗菌作用与组合参数

No.	R	(pK_a–0.1V_w)	lg 1/MIC	No.	R	(pK_a–0.1V_w)	lg 1/MIC
0	NO_2	–3.88	–2.569	6	$AcNHCH_2$	–0.138	–2.386
1	F	–1.02	–2.415	7	C_6H_5	–0.104	–1.699
2	Br	–0.612	–2.79	8	AcNH	0.745	–3.332
3	Cl	–0.48	–2.593	9	EtO	0.76	–2.655
4	$C_6H_5CH_2$	–0.477	–1.585	10	MeO	1.373	–2.185
5	I	–0.144	–2.404	11	*i*-Bu	1.535	–2.653

续表

No.	R	(pK_a–0.1V_w)	lgl/MIC	No.	R	(pK_a–0.1V_w)	lgl/MIC
12	Et_2N	2.107	–2.856	17	H	4.825	–0.041
13	*n*-Pr	2.557	–1.742	18	NH_2	5.656	–1.161
14	vinyl	2.939	–1.544	19	—	—	—
15	Et	3.58	–1.324	20	—	—	—
16	Me	4.573	–0.716	21	—	—	—

按照这种组合参数进行设计，似乎只需合成 6 个化合物就可找到最大活性的化合物。图 11-10 中实线是上述组合参数(pK_a–0.1V_w)按大小次序排列的活性值连线，显然不止有一个最大值。若用($pK_a+\pi$)作为组合参数，由小到大排列后的活性值用虚线相连。若以该组合变量进行斐波那契寻查，只能找到准最大活性化合物 16(R=CH_3)，而得不到最大活性化合物 17(R＝H)，因此，使用组合参数作为斐波那契寻查法的变量时应格外小心。

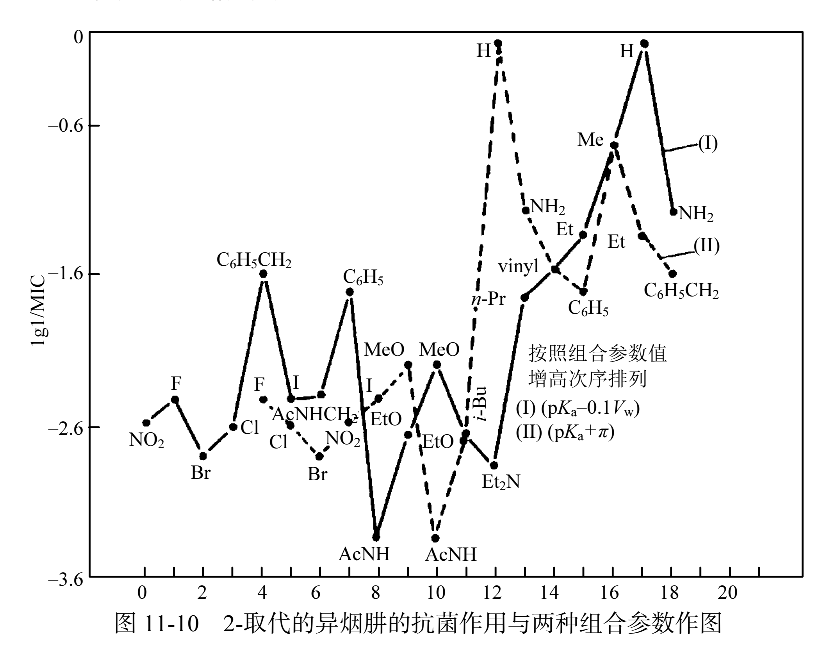


图 11-10　2-取代的异烟肼的抗菌作用与两种组合参数作图

11.3.2.3　单顺形法

单顺形法(sequential simplex method)是 Darvas 根据 Hansch 分析的原理于 1974 年提出了另一种非计算机的优化方法[109]。目的也是由先导物出发，以尽可能少的步骤，找到高活性化合物的方法。该方法的根据是，同源系列化合物的生物活性

受取代基的变化而改变，各种基团的物化参数制约生物活性的强度。如果活性主要受两种参数决定，这种关系可用三维坐标系中结构-活性加以表征。假如两个参数变量σ及π与生物活性作图，如图 11-11 所示。

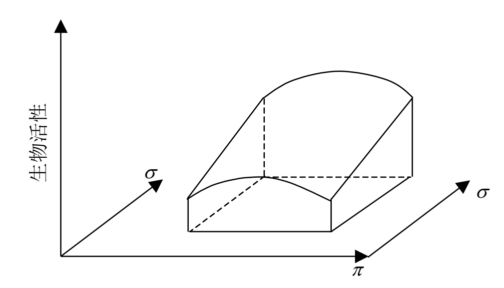


图 11-11　用曲面表示系列化合物生物活性与两种参数的相关关系

用这种作图法表示时，生物活性大致相同的化合物一般都相距较近。例如 14 个苯环上取代的磷酸二乙基苯基酯[110]对胆碱酯酶的抑制作用在σ及π坐标系上定位，如图 11-12 所示。若把生物活性大致分成 4 个区域，每个区域内有大致相同的活性，可以看出 4 个区域自下至上活性逐渐增加。当然，3-二甲胺基化合物是个例外。Darvas 还发现其他系列的化合物也有类似情况。

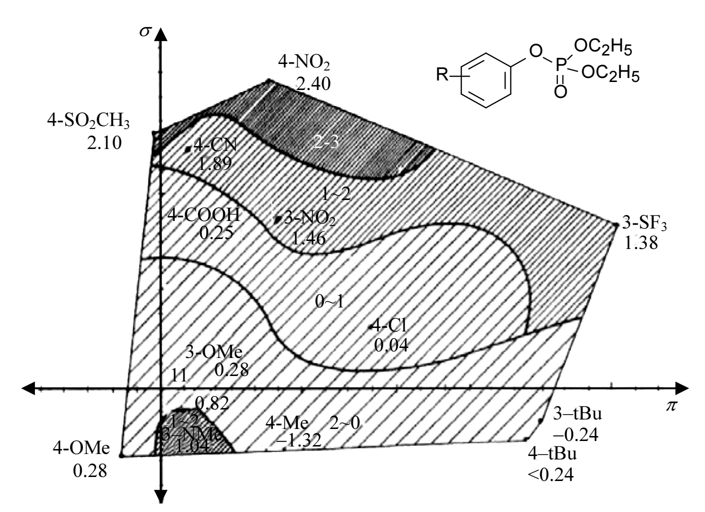


图 11-12　磷酸二乙基苯基酯的抑制活性在σ-π坐标系作图

根据这些发现，Darvas 提出了所谓的单顺自行导向的方法，或称单顺行法，主要原理可用图 11-13 加以说明。

假定考察某系列化合物的生物活性与σ及π的关系。起始化合物为 A、B 和 C，寻找最高活性化合物的操作如下：将 A、B 和 C 按照电性、疏水性和活性数值在

三维坐标系上定位，并连线形成三角形①，假定 B 活性最低，则 B 与对边 AC 的中点连线，在空间等距离延长线上找出最接近的σ及π值的基团 D，D 的活性会高于 A、B 和 C。去掉最低活性化合物 B，用 A、C 和 D 形成三角形②，△ACD 中活性最低的是 C，用同样操作，取 AD 线中点与 C 相连，等距离延长点处找到最接近的取代基 E。这样由一个三角形反射出另一个三角形。由于每一次反射操作保留了高活性的结构因素，淘汰掉低活性的化合物，因此每一步单顺形法操作，向最高活性化合物逼近，直到最终找到活性最高的化合物。

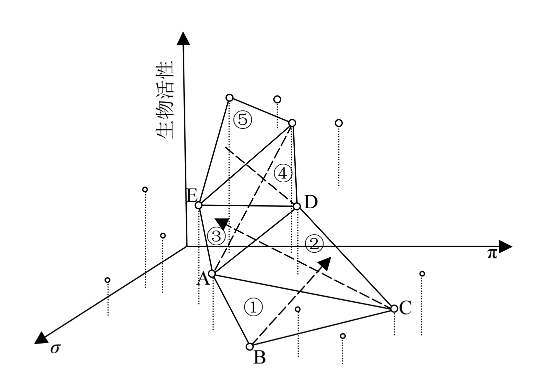


图 11-13　用单顺形法由化合物 A、B 和 C 开始寻找最高活性的模式图

现举一回顾性实例说明单顺形法的操作过程。从取代的磺胺类化合物[104]中如何以最少合成的化合物，优选出具有高活性利尿作用的分子。首先是选择大约 15~20 个取代基，选择标准是在这些取代基中可能有活性最高的化合物，为此，最好知道这类化合物的作用机制。但在知之较少情况下，宜以化合物的类药性质和合成原料易得为准，并应使诸取代基之间的π值和(或)σ值尽可能地相差大。若π值或σ值对生物活性影响较小时，应使用其他参数。由这 15~20 个取代基中选出两个，加上无取代的化合物(R=H)，在坐标系中构成三角形，该三角形不得有一个边太短，亦即生物活性之间有显著差异。然后合成这三个化合物并定量测定活性。图 11-14 所示的是首先合成 4-乙酰、4-氯和无取代的磺胺。生物活性在π-σ坐标图上用数值标出。这三个化合物构成的三角形①以无取代的最低，H 与对边中点连线向前等距离延长，得到基团 4-硝基。合成并测定 4-硝基化合物，活性增高，下一步是以 4-乙酰、4-氯和 4-硝基构成三角形②，此时 4-氯的活性最低，同上操作反射出最接近的取代基为 4-氰基。合成并测定 4-氰基磺胺，其利尿作用更高。这样用单顺形法研究了 5 个化合物就能够从预设的 15~20 个化合物中找到高活性的分子，避免了过多合成活性较低的化合物。若反射出的三角形③是 3-硝基化合物，其活性介于次高活性的 4-硝基与 4-乙酰化合物之间。也许 3-硝基也是活性很强的化合物，所以也应当合成。但既然 3-硝基活性比 4-硝基弱，故进而应合成附

近的基团，因而找到了 4-氰基磺胺。在 4-氰基附近可能仍有活性较高的分子，甚至在增高σ值、降低π值的方向上或许还会增加活性，可惜这类化合物当初未曾合成。

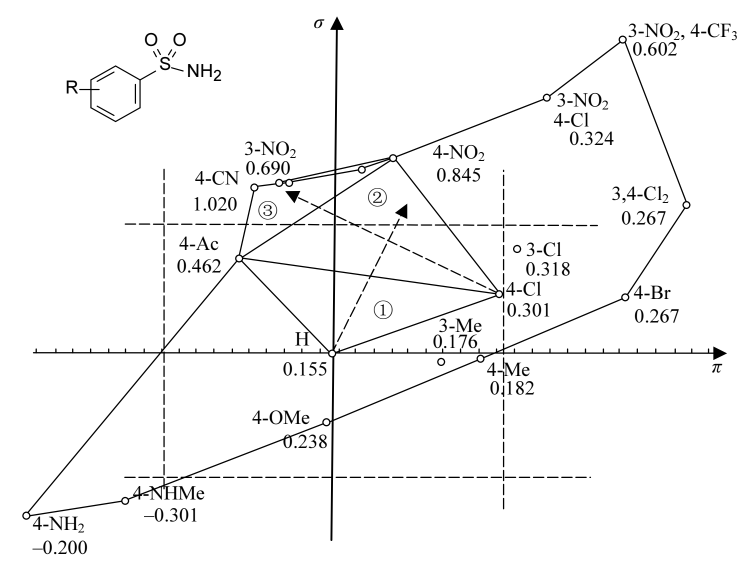


图 11-14　用单顺形法对磺胺类利尿作用的优化操作

Darvas 还对取代的苯氧乙酸刺激植物生长作用[111]进行的回顾性分析，如图 11-15 所示。

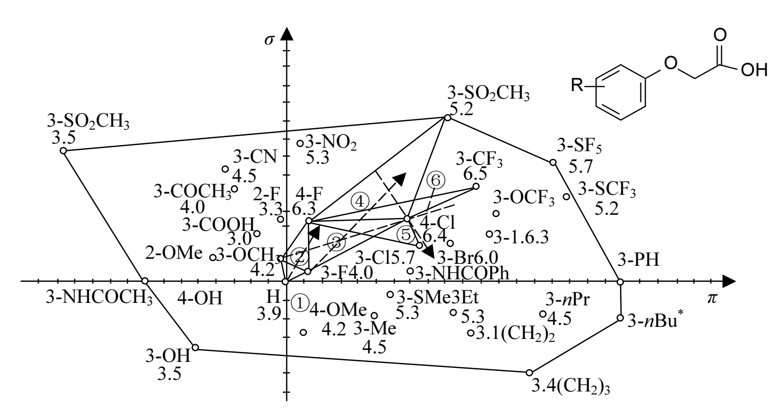


图 11-15　单顺形法对取代的苯氧乙酸活性的优化操作

* 基团旁无数值者无活性

首先由 H、3-OCH_3 和 3-F 取代基开始，在坐标图上形成三角形①，未取代的化合物活性最低(活性数据在图中各取代基旁标出)，第一次操作导出 4-F 取代基，

活性增高，对三角形②进行第二次操作，若以低活性的 3-F 作反射操作，得出 2-F 化合物，该化合物比以上的活性都低；但若以 3-OCH_3 作反射操作，得到 4-Cl 化合物，活性略有提高；以 3-F、4-F 和 4-Cl 构成的三角形③进行第三次操作，由 3-F 反射出 3-SO_2CH_3，活性高于 3-F 化合物；以 4-F、4-Cl 和 3-SO_2CH_3 构成的三角形④，3-SO_2CH_3 活性最低，以它进行反射操作，又得到了 3-F 化合物，这形成了“死循环”。为了走出这个循环圈，把④中高活性的 4-Cl 作对边反射操作，在延长线的方向上寻找新的取代基，这样找到了 3-Cl，其活性高于 3-SO_2CH_3；以 4-F、3-Cl 和 4-Cl 构成的三角形⑤进行第 5 次操作，此时 3-Cl 活性最低，按常规操作只能得到低活性的化合物；再用上述走出死循环的方法，仍以 4-Cl 进行反射操作，找到 3-CF_3，这是活性最高的化合物。

上述两个实例表明这种优化方法有以下特点：

(1) 这种操作方法不受局部低活性的严重影响，因而无活性的或低活性的化合物影响不到单顺形法操作。但因这类化合物不会被忽视，故而延长了寻找高活性化合物的过程，降低了本法的效率。当然，这不会影响最终结果。

(2) 如果在一区域内出现的活性化合物只是准最大活性时，就不能优选出最高活性的单顺形点，这是个很大的问题，这个区域内若无较高活性的分子时，就会使优化过程终止。上述的 4-氯苯氧乙酸就是非最高活性化合物，因而不得不用特殊的策略“走出”这个区域。但这个区域内若存在有最大活性时，就会“绕过”该准最大活性分子，寻找出最大活性的化合物。

如果有 3 个或 4 个参数决定化合物活性时，Purcell 等发明了一种快速操作的方法，扩大了单顺形法的使用范围。

11.3.2.4 Austel 系统药物设计

这种实验性方法的理论依据是 Hansch-藤田超热力学原理，即以自由能相关的物理化学参数的变化与生物活性具有相关性作为基础[112]。Austel 认为，对先导化合物进行优化设计，从开始就应系统地操作。在没有构效关系可依的条件下，要使设计和测定的化合物能提供出明确的构效关系信息，应遵循两个基本原则：参数的不相似性(dissimilarity)和正交性(orthogonarity)。因为设计的化合物若结构相似，会产生多余的信息，降低了研究效率；为了确保表征理化性质和拓扑学性质的结构参数有明确的含义，它们之间应呈正交关系，即相互独立性。此外，所设计的化合物应易于合成。

这种设计方法是根据 2^n 阶乘实验(factorial experiment)建立的，它具有通用性和方便灵活的特点。其原理是这种实验设计能把研究的因子对活性的影响所需要的实验样本减到最低程度。在设计实验时，要使影响生物活性的有关参数(因子)

之间满足不相似性和正交性的要求，即参数之间具有独立性，使设计的化合物在参数(因子)空间呈均衡分布。2^n 因子实验设计出的化合物组，可满足参数间的不相似性与正交性。

物理化学或拓扑学参数可用 2 个或 3 个水平表征，例如疏水性可用高(+)、中(0)和低(–)表示，某种拓扑学特征用有(+)或无(–)表示。用 2^n 因子实验设计的化合物除中间水平外其余参数的每个水平的组合只出现一次，两个参数 2 水平的组合数是 $2^2=4$；3 个参数 2 水平的组合数是 $2^3=8$。表 11-18 是 2 参数(A、B)和 3 参数(A、B、C)因子设计的化合物。

表 11-18　2 参数和 3 参数(两水平)的因子实验设计

No.	A	B	No.	A	B	C
1	–	–	1	–	–	–
2	+	–	2	+	–	–
3	–	+	3	–	+	–
4	+	+	4	+	+	–
			5	–	–	+
			6	+	–	+
			7	–	+	+
			8	+	+	+

以 4 位取代苯化合物为例，变换取代基 R。A 代表疏水性，B 代表电性[113]。根据 2 参数要求 4 个化合物，并用作图法使化合物的参数均衡分布在以 A 和 B 为坐标系的 4 个象限中，加上参数值为零的化合物 R=H，列于表 11-19 内。

表 11-19　取代基 R 的因子设计

取代基 R	A(π)	B(σ_p)
NH_2	–1.23(–)	–0.66(–)
OC_3H_7	1.05(+)	–0.25(–)
CN	–0.57(–)	0.66(+)
COC_6H_5	0.88(+)	0.54(+)
H	0.00(0)	0.00(0)

如果这 5 个化合物经合成和测定后只有 4-OC_3H_7 是活性化合物，下一轮是围

绕 OC_3H_7 的参数设计化合物，使 A 的范围为 0.1~2.2，B 的范围为–0.5~+0.1。并设定 π 值在 0.2 或 0.2 以下为(–)，2.0 左右为(+)；σ_p 为负值时为(–)，正值是(+)。表 11-20 是新设计的 4 个化合物，坐标中新的中点是 σ_p。

表 11-20 在新参数空间中取代基的因子设计

X = H, CH_3

No	取代基 R	A(π)	B(σ_p)
1	$N(CH_3)_2$	0.18(–)	–0.83(–)
2	$OCH_2 C_6H_5$	1.66(+)	–0.42(–)
3	F	0.14(–)	0.06(+)
4	2-苯并噻唑	2.13(+)	0.29(+)
	OC_3H_7	1.05(0)	–0.25(0)

考虑到表 11-20 中 X 可以是 H 或是 CH_3，并作为第 3 个参数 C(甲基为(+)，H 为(–))，3 个参数应有 8 个化合物，连同中点化合物 H 列于表 11-21 中。

表 11-21 3 参数的取代基因子设计

No	取代基 R	A(π)	B(σ_p)	C(I_x)
1	NH_2	–1.23(–)	–0.66(–)	0(–)
2	OC_3H_7	1.05(+)	–0.25(–)	0(–)
3	CN	–0.57(–)	0.66(+)	0(–)
4	COC_6H_5	0.88(+)	0.54(+)	0(–)
5	OH	–0.67(–)	–0.37(–)	1(+)
6	NHC_6H_5	1.37(+)	–0.40(–)	1(+)
7	$SOCH_3$	1.57(–)	0.49(+)	1(+)
8	2-苯并噁唑	1.69(+)	0.33(+)	1(+)
9	H	0.00(0)	0.00(0)	1(+)

表 11-21 中化合物 5~8 的 π 和 σ_p 所设定的水平与 l~4 的相同；指示变量 I_x 没有中间水平，此时中点化合物 H 既可设定为 1(+)也可为 0(–)。

如果在设计时涉及许多变量，2^n 因子实验法就会要求很多待试化合物，这对刚刚开始合成来讲显然很不经济。所谓分步阶乘实验(fractionally factorial experiments)设计法可以避免这个问题。这种方法是将因子 C(I_x)用 A 和 B 的乘积项的水平来调整。因而表 11-21 的 3 参数可用 4 个化合物就能处理。表 11-22 是 3 参数和 4 参数分步因子实验设计方案。

表 11-22　3 参数和 4 参数分步因子实验设计

No	A	B	AB→C	No	A	B	C	ABC→D
1	−	−	+	1	−	−	−	−
2	+	−	−	2	+	−	−	+
3	−	+	−	3	−	+	−	+
4	+	+	+	4	+	+	−	−
				5	−	−	+	+
				6	+	−	+	−
				7	−	+	+	−
				8	+	+	+	+

表 11-21 所列的 9 个化合物在三维参数空间所处的位置是，中点化合物在正立方体的中心，其余 8 个化合物位于立方体的每个角，如图 11-16 所示，但经分步因子设计，除中点外还保留 8 个化合物中的 4 个(即表 11-22 的左侧的 4 个)，它们处在四面体的顶角，在参数空间的分布是完全均等的。4 参数的分步因子实验设计产生 8 个化合物，第 4 个参数是 A、B、C 三项的乘积。

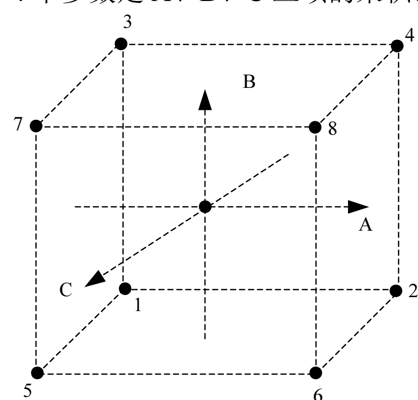


图 11-16　表 11-18 的 2^3 因子设计和表 11-22 的分步因子设计(化合物 2、3、5、8)

根据表 11-22 的分步因子实验设计的 3 参数方案，表 11-23 中的 8 个化合物减成 4 个，如表 11-23 所示。

表 11-23　根据分步因子实验设计将表 11-23 的 8 个化合物减为 4 个

No	取代基 R	A(π)	B(σ_p)	C(I_x)
1	NH_2	−1.23(−)	−0.66(−)	1(+)
2	OC_3H_7	1.05(+)	−0.25(−)	0(−)

续表

No	取代基 R	A(π)	B(σ_p)	C(I_x)
3	CN	−0.57(−)	0.66(+)	0(−)
4	COC_6H_5	0.88(+)	0.54(+)	1(+)
5	H	0.00(0)	0.00(0)	1(+)

如果有 4 个以上的参数，例如 A、B、C、D 和 E，第 5 个参数用 ABCD 乘积项表示。也可用 AB、AC、AD、BC…或 3 参数乘积项表示第 5 个参数，不必用因子的最高数目相乘得到的乘积项表示，其他乘积项不会降低正交性，但有时不相似性难以满足。此外，选定的乘积项对化合物的均匀分布没有影响，因而可根据化合物是否容易合成来确定参数。

以具有镇痛作用的 5-芳基吗吩烷为例，用系统药物设计过程如下：结构的变动范围有 3 个，A：R=H 时，I_x =0(−)；R=CH_3 时，I_x =1(+)；B：亚甲基数 n(只考察直链)$n\leqslant 2$ 为(−)，$n>2$ 为(+)；C：X 的疏水性π_x，$\pi_x<0.5$ 为(−)，$\pi_x>0.5$(+)。用有乘积项的 2^2 因子实验设计，因无法选择出可代表中点的化合物，故第一轮设计 4 个化合物(表 11-24)。

表 11-24　5-芳基吗吩烷的因子实验设计表

参数：A(I_R)　B(n)　C(π_R)								
第 1 轮设计：A：R=CH_3(+)，R=H(−)，B：$n>2$(+)　$n\leqslant 2$(−); C: $\pi_x>0.5$(+) $\pi_x<0.5$(−)								
No	A	B	AB	R	n	X	π_R	ED_{50}/(mg/kg)
1	−	−	+	H	1	HC=C(CH_3)$_2$	1.45	25.00
2	+	−	−	CH_3	1	H	0.00	6.96
3	−	+	−	H	4	H	0.00	8.79
4	+	+	+	CH_3	3	4-F-C_6H_4CO	1.19	0.85
第 2 轮设计：A：R=CH_3(+)，R=H(−)，B：$n>2$(+) $n=2$(−); C: $\pi_x>1.2$ (+) $\pi_x<1.2$(−)								
No	A	B	AB	R	n	X	π_R	ED_{50}(mg/kg)
5	−	−	+	H	2	4-Cl-C_6H_4	2.67	0.42
6	+	−	−	CH_3	2	H	0.00	11.87
7	−	+	−	H	4	H	0.00	8.79
8	+	+	+	CH_3	3	4-Cl-C_6H_4	2.67	

续表

参数：A(I_R)　B(n)　C(π_R)								
第 3 轮设计：A: R=CH_3(+), R=H(−), B: n=3(+)　n=2(−); C: π_x>1.8(+) π_x<1.8(−)								
No	A	B	AB	R	n	X	π_R	ED_{50}/(mg/kg)
8	–	–	+	H	2	3-Cl-C_6H_4	2.67	0.46
9	+	–	–	CH_3	2	3-OH-C_6H_4	1.29	
10	–	+	–	H	3	4-F-C_6H_4CO	1.19	0.35
7	+	+	+	CH_3	3	4-Cl-C_6H_4	2.67	

第一轮合成的 4 个化合物以 No.4 活性最高，可望在此参数附近找到活性更高的化合物。以 No.4 为中点，设计第二轮化合物，因 No.4 适合新的一轮参数要求，故再次 2^n 因子实验设计只合成 3 个新化合物，此时 No.5 活性进一步提高。由于 No.5 与 No.4 活性相差不太大，并且参数间有相似性，因而第三轮设计的化合物，其参数水平要使它们在 No.4 和 No.5 的范围内，从而得到最高活性的化合物 No.9。应当指出，在每一轮设定的参数水平要不断的调整。

11.4　药物作用的潜伏化——前药和生物前体药物

11.4.1　原理

药物的作用强弱既取决于分子的药效学性质，也与物理化学和药代动力学性质是否完善合理有关。不少药物虽有较强的体外活性，但因诸如溶解性和不良气味与味道的药学缺点和胃肠道吸收、组织、器官的特异性分布等药代动力学的缺陷，限制了药效的发挥。为了改善药物的药代性质，Alberts 提出了前药概念[114]。Harper 于 1959 年提出药物的潜伏化原理(drug latentiation)[115]。潜伏是指本身已存在，但未呈表露或展现的形态。潜伏化药物是把有活性的药物(原药或称母体药物)转变成非活性的化合物，后者在体内经酶或化学作用，生成原药，发挥药理作用。这种非活性的化合物就是潜伏化药物，本身虽无活性，但有比原药较好的物理学、化学或药代动力学性质。

潜伏化药物与药物制剂区别在于，药物制剂是通过改变药物的物理分散状态，或与其他惰性物质的物理组合或者调整介质的物理性质，使与药物发生弱作用力的结合，从而达到易于呈现药效的目的。在制备过程中，没有改变药物分子的化学结构。现今有许多新的药物载体或辅料用于药物传输系统，例如脂质体(liposome)、大分子复合物、微球体(microsphere)、多重乳化系统(multiple emulsion

system)和纳米粒(nanoparticle)等形式，一些新的剂型如植入剂(implant)、渗透泵(osmotic pump)以及用离子交换树脂和多孔聚合基质制成的控释系统(controlled release system)等。

潜伏化药物还应与同源类似物(analog)相区别，虽然二者在结构上与原形药物相似，但在许多方面有不同之处。例如在活性上类似物本身就有活性，而潜伏化药物需于体内经转化后方呈现活性；在设计意图上，类似物是为了改善物化、药代和活性，重点是活性，而潜伏化药物则是为改善物化和药代动力学性质；从合成的难易看，类似物较难，潜伏化药物较易；就成功率相比，类似物较小，潜伏化药物的成功率较大。

类似物与原形药物的结构上区别常常是只有少数原子或基团的差异，一般由原药经电子等排变换而得到，尽管结构上类似，但类似物的活性是其本身的特征，具有不依赖于原药的独立品性，例如异丙肾上腺素(isoproterenol，285)是肾上腺素(epinephrine，286)的类似物，而地匹福林(dipivefrine，287)则是肾上腺素的潜伏性药物。

285　　286　　287

去甲肾上腺素(288)是多巴胺(289)的类似物，而左旋多巴(290)是多巴胺的潜伏化药物。

288　　289　　290

图 11-27 是区别原药、类似物和潜伏性药物的模式图。药物有时因难以到达受体部位，以致不能呈现药理活性；类似物虽能穿越屏障到达作用部位，却不能与受体相互作用；潜伏化药物，既可穿越屏障到达受体部位，也会因生物转化释放出原药而与受体作用，呈现药理活性。

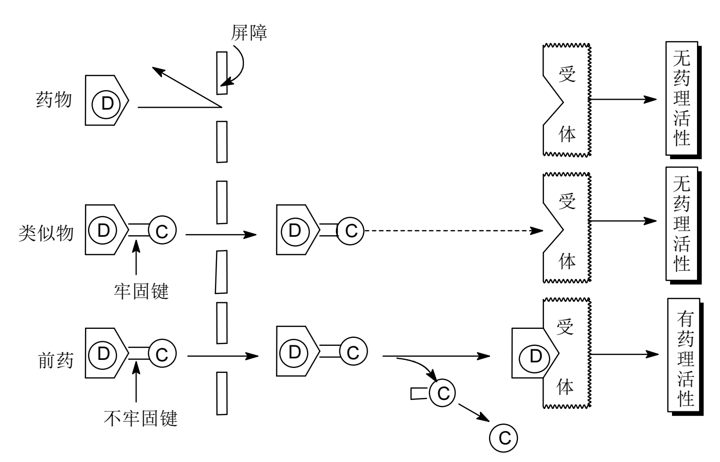


图 11-17　原药、类似药和潜伏化药物作用示意图

Ⓓ=药物；Ⓒ=载体基团

药物制成潜伏形式目的是多方面的，一般而言是基于制药学、药代动力学或毒理学等方面的考虑，将原药结构加以暂时性的改变，以克服某(些)方面的不足。例如在药学方面原药的化学稳定性差，不适宜的水溶性或脂溶性，不适的味道或气味，制剂的困难性等需加以克服或掩蔽；在药代动力学方面的问题如口服生物利用度低，向特异部位转运差，起效或持续时间的不适宜，不能透过某些屏障如血脑屏障、角膜或皮肤等组织，因而不能或难以达到作用部位；在毒理方面主要是因原药的药学或药代性质的问题造成毒性较大等。在一定程度上这些可以通过药物的潜伏化加以克服。

根据潜伏化药物产生原药的过程的不同可分成两大类：前药(prodrug)和生物前体药物(bioprecursor)。前药是有生物活性的原药与某种化学基团、片段或分子经共价键形成暂时性键合，形成的新化学实体本身无活性或活性低于原药，在体内适当的时刻和部位经过水解反应裂解掉暂时的转运基团，复生成原药。生物前体药物虽也是新化学实体，但不是原药与其他基团或片段的暂时性共价键合，而是由原药(有活性)经化学变换生成新的无活性化合物，经体内代谢酶的催化反应，生成原药而呈现作用。前药与生物前体药物间的主要区别列于表 11-25。

表 11-25　前药与生物前体的区别

特点	前药	生物前体药物
组成	原药+基团、片段或载体	原药结构改变，无载基
亲脂性	变化较大	变化较小
活化反应	水解	氧化、还原或其他反应
催化作用	化学作用或酶解	只是酶催化

11.4.2　前药

前药又称载体前药(carrier-prodrug)，是药物的易变和可逆的衍生物。前药设计有如下特征的因素：

(1) 原药分子与载体是经共价键连接；

(2) 前药本身没有活性或低于原药的活性；

(3) 前药的合成简单易行，最好是一步反应，而且载体分子宜价廉易得；

(4) 前药是可逆性药物，是原药与载体的键合的新化合物，在体内经化学或酶促反应可被裂解出原药；

(5) 裂解出的载体分子应无毒性或没有生理活性；

(6) 前药分解成原药，应有足够快的反应动力学，以保证作用部位处生成有效浓度的原药。

根据原药的化学结构，制备前药的方法可分成二类：①将羧酸、醇或酚转变成酯；胺类形成酰胺、亚胺、磷酰胺或 Mannich 碱；醛、酮类形成半缩或缩醛、酮；②引入偶氮基、糖苷基，肽键与醚键。表 11-26 列出了原药功能基、前药的载体键型和有代表性的实例。

表 11-26　前药设计的类型

功能基	载体类型	代表例
-OH	$-O(CO)-C_{15}H_{31}$	氯霉素棕榈酸酯
	$-O(CO)-C(CH_3)_3$	地匹福林(dipivefrine)
	$-O(CO)-CH_2CH_2COOH$	泼尼松龙琥珀酸半酯
	-O(CO)-R	麝香草酚碳酸酯
	$-O-NO_2$	硝酸戊四醇酯
	-O(CO)-NHR	氨基甲酰甲苯丙醇
-COOH	$-COO-C_2H_5$	依那普利(enalapril)
	$-COO-CH_2COOH$	阿西米辛(acemetacin)
	$-COOCH(CH_3)-OCOC(CH_3)_3$	巴氨西林(bacampicillin)，酞氨苄西林(talampicillin)，阿拉普利(alacepril)，
	-CO-NHOH	异丁普生(ibuproxam)
$-NH_2$	$-NHCO(CH_2)_{20}CH_3$	依诺它宾(enocitabine)
	$-NHCONH(CH_2)_5CH_3$	卡莫氟(carmofur)，呋氟尿嘧啶(ftorafur)，罗利环素(rolitetracycline)
	-N=CHR	维拉烟肼(verazide)

设计和合成前药的目的，是为了解决特定的药学或药代动力学问题，赋予药物以有益的性质，主要包括有：①改变体内的药代动力学性质，调整药物在体内的吸收和分布，即生物利用度；②改善药物的稳定性和溶解性；③消除不良的气味和味道；④减低毒性和不良反应；⑤提高向特定部位的转运和分布；⑥延长作用时间。有时制备一个前药可得到数种良好的性质，例如前述的地匹福林作为肾上腺素的前药，治疗开角青光眼的效果远远超过其原药，生物利用度高，持续作用时间长，作用强，不良反应少，并且化学稳定性好。

11.4.2.1　改善药代动力学性质

主要指的是改善原药在体内的吸收、分布、生物转化和排泄行为，通常是将原药酯化、酰胺化或与高分子化合物键联。

许多抗生素例如青霉素、头孢菌素、四环素、林可霉素和红霉素等可经过酯化作用，增加药物的脂溶性。由于降低了原药的极性，有利于提高穿越生物膜的能力，因而提高了口服的生物利用度和抗菌活性。经酯化后的前药只有水解后才呈现活性，为此宜制备双酯以达到容易水解的目的。例如氨苄西林(ampicillin，291)的亲脂性较差，口服用药只吸收 30%~40%，将极性基团羧基酯化，制成匹氨西林(pivampicillin，292)、巴氨西林(bacampicillin，293)、仑氨西林(lenampicillin，294)和酞氨苄西林(talampicillin，295)。这 4 种前药的设计原理是相同的，每个前药分子中至少有两个酯键，而且是缩醛或缩酮型酯，因而体内的酯水解酶只要水解掉 1 个酯键，形成不稳定的中间体可迅速分解出原药氨苄西林。

292 → 291 + HCHO + (CH3)3C-COOH

292　　291

293　　294　　295

R =

同样，头孢菌素类的羧基制成二酯的前药也使生物利用度提高。例如头孢美唑(cefmetazole，296)和头孢特仑(cefteram，297)制成新戊酰氧甲基酯(POM 酯，298)，提高了口服吸收率。

$ClCH_2OCOC(CH_3)_3$

$(C_2H_5)_3N$

296　　　　298

297

血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme，ACE)的抑制剂具有降血压作用，巯甲丙脯酸(captopril)作为口服降压药虽已广泛应用，但希望找到活性更强的 ACE 抑制剂，其中依那普利拉(enalaprilat，299)离体活性虽强，但消化道吸收很差，口服无降血压作用。合成其前药单乙酯马来酸盐称为依那普利(enalapril，300)在人体胃肠道吸收良好，吸收后在肝脏被酯酶水解，以原药依那普利拉形式发挥降压作用。

若依那普利拉的两个羧基都被乙酯化(301)或只脯氨酸残基的羧基乙酯化(302)，则水解较困难，口服的降压作用很弱。这表明乙酯基 R_2 比乙酯基 R_1 难于水解，因而这两个化合物不是依那普利拉的前药，但若 R_2 改换成新戊酰氧甲酯(POM)则因容易水解，口服吸收后有良好的降压效果。

	R_1	R_2
299	H	H
300	C_2H_5	H
301	C_2H_5	C_2H_5
302	H	C_2H_5

左旋多巴(303)为氨基酸因含有游离的氨基和羧基，在体内可形成内盐，口服生物利用度低，其二肽酯(304)的口服吸收显著地改善。

303　　　　304

氟尿嘧啶酯(305)的亲脂性高于原药氟尿嘧啶，口服或直肠给药吸收迅速，并于血浆中迅速和完全水解生成原药，从而提高了这种抗癌药的生物利用度。

R = CH_3, C_2H_5, C_4H_9, $CH_2CH(CH_3)_2$

CH_2CH_2Cl, C_6H_5, $CH_2C_6H_5$

305

对乙酰氨基酚(306)的生物利用度较低，酚羟基被酯化成丙帕他莫(propacetamol，307)或舒马他莫(sumacetamol，308)增高了生物利用度。

306　　　　307　　　　308

氨苄西林(ampicillin，309)与舒巴坦(sulbactam，310)分别是细菌转肽酶和*β*-内酰胺酶抑制剂，都含有羧基，二者与甲醛水合物共同形成混合酯(311)，口服可迅速和完全地吸收，在血液和组织中经酶水解出原药。

311　　　　309

＋　　　　＋ HCHO

310

坎特沙坦(candesartan，312)是血管紧张素 II 受体拮抗剂，为降压药。分子中含有两个酸性基团：羧基和四氮唑基，由于极性大吸收性能差。将羧基制成双酯，得到前药 candesartan cilexetil(313)，增加了脂溶性，提高了口服生物利用度，为长效降压药。该前药的结构特征是含有两个可被水解的酯键，在体内水解成坎特沙坦、环己醇、乙醛，并释出二氧化碳[116]。

312　　313

抗血栓药 IIb/IIIa 糖蛋白受体拮抗剂的药效团为空间适当排布的碱性基团(如脒基)和酸性基团(如羧基)，为精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽片段(RGD)的模拟物。由于羧基和脒基间形成内盐，导致口服利用度很低，作为抗血栓药物只能静脉注射使用。Sibrafiban(314)是将羧基酯化、脒基氧化成羟脒基的前药，避免了生成内盐，口服吸收后，羟脒被还原，酯基被水解成为活化形式(315)而起效[117]，所以 sibrafiban 是双前药。

羟脒还原
酯基水解

314　　315

抗乙型肝炎和艾滋病药物阿德福韦(adefovir，316)作为 HBV 和 HIV 病毒逆转录酶抑制剂，由于含有带负电荷的膦酸基不利于进入被病毒感染的宿主细胞内。为遮盖膦酸基的负电荷，增加药物的脂溶性，制成前药阿德福韦二新戊酸酯(adefovir dipivoxil，317)。该前药进入细胞后迅速被酯酶水解出阿德福韦，后者经二磷酸化成活化形式(318)，抑制病毒 RNA 逆转录酶[118]。

316　　317　　318

11.4.2.2　控释性前药

控释和缓释药物主要依靠制剂方式实现，但用化学方法制成前药，也可以达到控释原药发挥作用的目的。将原药用癸酸酰化生成强亲脂性前药，溶解于植物油中肌肉注射后，该油性储库可被缓慢地释放到血液循环中，并迅速被酯酶水解释放出原药。例如抗精神病药物氟奋乃静(fluphenazine，319)的羟基被癸酰化成前

药(320)，进入血液后会释放出原药。

$C_9H_{19}COOH$

319　　320

此外，氟哌啶醇(haloperidol)、氟哌噻吨(flupenthixol)和珠氯噻醇(zuclopenthixol)等抗精神失常药都可制成多碳羧酸酯前药，具有控制释放原药的特征[119]。

还可将药物与聚合物键联制成高分子药物，达到控释药物的目的，将在本节后面讨论。

11.4.2.3　改善水溶解性

青蒿素(artemisinin，321)因分子中含有特异的过氧键，作用于疟原虫含铁辅基，是强效抗疟药，但口服生物利用度较低。将内酯的羰基还原成羟基成双氢青蒿素(322)仍保持抗疟作用。用该羟基作为“把手”，制成琥珀酸单酯(青蒿琥酯，artesunate，323)，其钠盐可溶于水制成注射液。青蒿琥酯是双氢青蒿素的前药。

还原　　酯化

321　　322　　323

为增加泼尼松龙(prednisolone，324)的水溶解度，将 21 位羟基制成琥珀酸单酯(325)或磷酸单酯(326)，其钠盐易溶于水，可作注射用。到体内酯被水解成泼尼松龙。

324　　325　　326

酰胺化合物制成 Mannich 碱型前药，也可增加水溶解度。例如卡马西平(carbamazepine，327)的哌啶 Mannich 碱(328)水溶解度增加了 1 万倍。

327　　328

11.4.2.4　消除不适宜的制剂性质

药物的苦味和不良气味常常影响患者特别是儿童用药。例如氯霉素(chloramphenicol，329)极苦，但其棕榈酸酯(330)的水溶解度很低，无苦味，也没有抗菌活性。经肠黏膜及血中的酯酶水解，可生成活性的原药。

$$O_2N-C_6H_4-CH(OH)-CH(NHCOCHCl_2)-CH_2-OH \underset{\text{酯酶}}{\overset{C_{15}H_{31}COCl}{\rightleftharpoons}} O_2N-C_6H_4-CH(OH)-CH(NHCOCHCl_2)-CH_2-OCOC_{15}H_{31}$$

329　　330

林可霉素(lincomycin，330)和氯洁霉素(clindamycin，331)的棕榈酸酯(332，333)也是无苦味的前药。

330: R = H
331: R = Cl

332: R = H
333: R = Cl

三醋汀(triacetin，334)是乙酸的前药，乙酸有较强的抗真菌作用，但对皮肤有刺激和腐蚀性。乙酸甘油可被人体皮肤和真菌中的酯酶水解，缓慢释放出乙酸。所以，甘油可视作乙酸的载体。

$$\begin{matrix} CH_2OCOCH_3 \\ CHOCOCH_3 \\ CH_2OCOCH_3 \end{matrix} \xrightarrow{H_2O} \begin{matrix} CH_2OH \\ CHOH \\ CH_2OH \end{matrix} + 3CH_3COOH$$

334

乌洛托品(urotropin，335)作为尿路消毒药，是甲醛的前药。甲醛是有刺激性的难闻气体，甲醛水溶液对皮肤黏膜也有较强的刺激性，不能口服用药。乌洛托品是甲醛与氨的缩合物，在含酸性尿液的肾小管和膀胱中被缓慢水解释放出甲醛，所以乌洛托品是尿路消毒药。

335

3-羟基吗啡喃类阿片受体激动剂(镇痛药物)和拮抗剂(吗啡解毒剂)由于苦味和肝脏首过效应不能直接药用，制成脂肪酸酯前药可消除苦味和首过效应，提高了生物利用度[120]。

11.4.2.5　减低毒性和不良反应

羧酸和酚类变成酯后通常减低毒性，在体内酯被水解再生出原药。非甾体抗炎药的羧基会引起消化道溃疡，因而阿司匹林、双氯芬酸(diclofenac，336)、氟芬那酸(flufenamic acid，337)、吲哚美辛(indomethacin，338)和托美汀(tolmetin，339)被酯化成前药，毒性和刺激性降低，在体内水解后起效。

336　　337　　338　　339

具有抗炎作用的 helenalin(340)是含α,β-不饱和酮和不饱和内酯的倍半萜化合物，毒性较大，用不同长度脂肪二羧酸(n=1~14)连接的双酯(341)毒性降低，但保持活性[121]。

340　　341

血管紧张素转化酶抑制剂卡托普利(captopril，342)，其巯基在体内是不稳定

的基团，产生不良反应，经乙酰化被掩蔽(343)后，毒副作用降低，到体内水解出原药，呈现降血压作用。

342　　343

吲哚美辛(indomethacin，344)有非常强的镇痛消炎作用，口服用药的主要副作用是对胃肠道的刺激，该副作用与其主作用都是由于抑制了环氧合酶和前列腺素的合成。为消除口服吲哚美辛的不良反应，制成其羟乙酸酯(阿西美辛，acemetacin，345)，体外或局部用药有很弱的抑制前列腺素合成作用，口服无胃肠道刺激性，却可产生与原药相同的药效，系因吸收后水解生成吲哚美辛。

344　　345

11.4.2.6　提高作用部位的特异性

理想的药物应当选择性地转运和浓集于作用部位，而不在或较少在其他组织或器官中分布和储积。因此提高药物向作用部位的特异性分布，是增加药效、降低毒副作用的重要措施。为了提高部位特异性，在设计前药时一般采用如下的方法：增加或减低分子的体积，改变溶解度或亲水性，引入或去除负(或正)离子，改变化合物的 pK_a，引入适当的稳定性或易变性基团，以及引入可向特定组织或器官中转运的载体等。

增加原药的水溶性或极性，可降低胃肠道中的吸收。为了抑制肠道的病菌，可增加磺胺药物的极性，例如磺胺胍(sulfaguanidine，346)、琥磺噻唑(succinylsulfathiazole，347)和酞磺醋胺(phthalylsulfacetamide，348)，它们几乎不被吸收，停留于肠道中，在肠道内被细菌的水解酶分解成原药磺胺或磺胺噻唑起作用。

346　347　348

可的松(cortisone，349)的 21 位羟基与葡萄糖缩合，生成糖苷(350)，增大了原药的体积和极性，因而降低了穿透生物膜的能力，不能被吸收。在小肠中这类甾体糖苷不会被酶水解，但在大肠中可被细菌的糖苷酶水解出原药，可在大肠内呈现抗炎作用。

349　350

根据组织或器官的生物化学或组织学特征，可设计向某部位选择性转运或活化的前药。例如为穿越血脑屏障增加向中枢神经系统的分布，宜引入亲脂性基团。多巴胺是中枢神经的重要递质，可用于改善帕金森病的症状，但多巴胺不能穿越血脑屏障。L-多巴穿越血脑屏障虽优于多巴胺，但多巴脱羧酶在脑内并非是特异的，而且穿越血脑屏障也不充分。设计多巴胺的前药提高了脂溶性。

多巴胺两个酚羟基被新戊酸酰化成强疏水性酯，有利于透过血脑屏障，氨基被 *N*-甲基二氢烟酸酰化，得到前药(351)，增加了疏水性。进入中枢后，被氧化成 *N*-甲基烟酰胺化合物(352)，该季铵盐难以透过血脑屏障离开中枢，停留于脑内，并被脑内的酯酶和酰胺酶催化水解，释放出原药多巴胺(353)。

酯酶, 酰胺酶
H_2O

351　352　353

肾脏有两种活性较高的酶：*N*-脱酰酶和γ-谷氨酰转肽酶，这为设计治疗肾脏疾患的前药提供了生化依据。磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole，354)可制成 *N*-乙酰-γ-谷氨酰磺胺甲噁唑(355)，在肾脏中脱酰酶作用下，生成γ-谷氨酰化合物，进而在γ-谷氨酰转肽酶催化下释放出原药，因而是特异的肾脏抗感染药[122]。

355

354

L-多巴或多巴胺有扩张血管作用。制成 7-谷氨酰左旋多巴或 7-谷氨酰多巴胺，具有特异的肾血管舒张作用。

可尔特罗(colterol，356)是β-肾上腺素能受体阻断剂，可解除平滑肌痉挛。但在体内很容易被儿茶酚-*O*-甲基转移酶催化，酚羟基代谢转化为单甲醚化而失活。制成双对甲基苯甲酸酯比托特罗(bitolterol，357)，可避免酚羟基的甲基化，而且比托特罗选择性地浓集于肺中，在肺脏的酯酶作用下水解出可尔特罗，刺激肺和支气管细胞中的腺苷酸环化酶和阻断β-肾上腺素能受体，因而解除气管平滑肌的痉挛[123]。

356　357

为提高抗癌药物的选择性，减少对正常组织的毒性作用，最好使药物浓集于肿瘤组织中。一种解决的方法是利用肿瘤和正常组织中酶活性的差异，设计前药。例如肿瘤组织中尿嘧啶核苷磷酸酶有较高活性，将氟尿嘧啶(5-FU，358)制成去氧氟尿苷(deoxifluridine，359)，进入肿瘤组织后被酶水解出氟尿嘧啶，呈现抗癌活性。

358　359

利用实体瘤缺氧和 pH 较低的生理特征，设计抗癌药物的前药可以提高选择性作用。含有硝基的化合物在缺氧的癌细胞中可在谷胱甘肽 *S*-转移酶催化下被谷胱甘肽还原成氨基或羟胺，后者可通过输送电子的机制将抗癌药物的毒性基团活化，而正常细胞此过程较弱，故提高了选择性。1,2-双-(烷磺酰基)-1-(2-氯乙基)肼为细胞毒药物，制成含硝基的前药(360)对实体瘤的缺氧细胞毒性大，而对有氧细胞不敏感，是由于该前药中的硝基在缺氧和偏酸性内环境的癌细胞中，被谷胱甘肽酶/谷胱甘肽还原成芳胺或芳羟胺，经电荷转移，生成两个有细胞毒作用的物质：一是醌式亚胺化合物(361)，为强亲电物质，容易与癌细胞的成分发生亲核取代反应，产生细胞毒作用；另一是烷化剂(362)，有强效烷化作用[124]。

还原 $4e^-$或$6e^-$

NHR　R = OH, H

360　　361　　362

$CH_3SO_2^-$ + $H_3CSO_2N{=}NCH_2CH_2Cl$

该化合物在中性条件下被催化还原的速率很慢，因而对正常细胞毒性低，但在癌细胞中呈现选择性毒性。此外，硝基也可在离去基团的邻位，例如下面邻硝基化合物在 pH 6 环境下，细胞毒作用强于 pH 7.4 的环境。

还原 $6e^-$

外源性物质和药物难于进入中枢神经系统，在于机体具有先天保护中枢免受侵害的机制。血脑屏障与外周毛细血管的区别是前者含有高活性的水解酶，容易降解来自血液中的神经递质和神经调节剂。而且，亲脂性化合物虽然可以穿越血脑屏障，但又是血脑屏障中 P-糖蛋白的底物，促使进入到血脑屏障的药物又回到血液中，许多脂溶性物质被 P-糖蛋白外排速率比穿越血脑屏障的速率快。

为了增加药物向中枢神经系统的转运，将进入的药物封闭在脑中，Bodor 等应用 *N*-甲基二氢吡啶与吡啶鎓盐氧化还原系统作为载体，制成中枢神经药物的前药[125]。例如，促甲状腺素释放激素(TRH)可提高细胞外乙酰胆碱水平，加速乙酰胆碱的转运，改善学习记忆。作为神经肽药物，可以治疗运动神经疾病和阿茨海

默病。TRH 的结构为焦谷氨酸-组氨酸-脯氨酸-NH_2。设计了如下结构的前药(363)，间隔基为丙氨酰丙氨酸或脯氨酰脯氨酸。

363

该前药的活化原理如下：

(1) 前药 363 具有脂溶性，进入中枢后，*N*-甲基二氢烟酰基被酶促氧化生成季铵，分子的极性增加，难以穿越血脑屏障，被封闭在中枢内；

(2) 间隔基被肽酶裂解掉吡啶𬭩盐片段；

(3) 谷氨酸环化酶可将谷氨酰胺 Gln 变成焦谷氨酸 P-Glu，暴露出 TRH 链；

(4) 肽甘氨酸的单氨氧化酶(PAM)将 C 端甘氨酸残基裂解转变为酰胺，游离出 TRH。

为了证实设计的合理性，将前药与大鼠脑匀浆 37℃温育，经质谱证明了各个中间体的存在。体内试验表明该前药对抗巴比妥引起小鼠麻醉作用比原药 TRH 作用强。

为使多巴胺缓释于脑或垂体前叶，降低在外周组织或血液中的浓度，将多巴胺与 *N*-甲基二氢烟酸结合成酰胺(364)，它本身没有多巴胺活性，但由于具有脂溶性，且分子量较小，较易分布到脑内，在脑内经氧化作用变成季铵盐，被封闭在中枢内，并缓慢水解释放出多巴胺，产生持续的生理作用。未进入中枢存留于血浆或组织中的二氢烟酰多巴胺被氧化成水溶性季铵盐，可迅速排泄，因而降低了外周的多巴胺水平。图 11-18 示意了多巴胺前药在中枢和外周的分布和代谢状态。

364

图 11-18　多巴胺前药在中枢和外周的分布

11.4.2.7　延长药理作用时间

为延长药物的作用时间，可通过不同的环节实现：设计的前药减慢原药的代谢失活速率、排泄速率或增高药物在组织内的存留时间并逐渐释放出原药。为达到这个目的，常用的方法有 3 种，生成盐、生成酯或酰胺和高分子药物。

延长作用时间设计盐类前药的最常用的化合物是双羟萘酸(pamoic acid，365)，可以同碱性药物形成加合盐，例如与环氯胍、双氢链霉素、丙咪嗪和苯二甲吗啉等成盐。

也可用 *N*,*N'*-二苄基乙二胺(benzathine，366)和普鲁卡因(procaine，367)等碱性化合物，与酰性药物例如与青霉素形成加合盐。

365　　366　　367

含有羟基或氨基的药物与有机羧酸形成酯或酰胺可成为长效药物，常用的酸有丙酸、戊酸、肉桂酸和棕榈酸等。甾类抗炎药和性激素药物酯化后可延长作用时间。

白血病治疗药依诺他宾(enocitabine，368)是阿糖胞苷(Ara-C，369)的 *N*-二十二碳羧酸酰化物，由于引入长链酰基，一方面提高了向癌细胞中透入的能力，也保护了阿糖胞苷 4 位氨基免受血浆中胸腺嘧啶核苷脱氨酶的脱氨作用，避免生成无活性的阿糖尿苷(Ara-U，370)。依诺他宾在血液中有较长的半衰期，在血浆的酰胺酶作用下逐渐水解出 Ara-C。

368 369 370

替加氟(tigafur，371)是抗癌药物氟尿嘧啶(5-FU，372)的一个成功的前药。替加氟体外试验没有抗癌活性，到达体内在肝脏的药物代谢酶细胞色素 P450 作用下，转变成有活性的 5-FU。另一方面，替加氟因脂溶性增高，改善了胃肠道的吸收。毒性也只为 5-FU 的四分之一，而且在组织内有一定的储积作用，可在较长时间内缓释出 5-FU。

聚合物型前药可将原药与聚合物经共价键连接，例如对氨基水杨酸与聚乙烯醇生成的酯(373)，在体内逐渐释放原药；丝裂霉素与右旋糖苷的共价结合物，由于是缓释药物，降低了毒性。原药还可与聚合物以非共价键方式结合，例如碱性药物与带负电荷的聚合物形成离子复合物，如羧甲基纤维素与苯海拉明或奎宁形成复合物，磺化的苯乙烯-二乙烯苯聚合物与抗组胺药氯苯那敏(chlorpheniramine)的复合物。

371 372 373

11.4.2.8 利用载体的分子内反应释放前药

内酯作为载体与药物形成前药，可以容易发生分子内反应，将原药释放。为此，原药分子中应有可被酰化的基团，内酯暴露出的羟基被另一羧酸或原药的羧酸酯化，这样使内酯成为“外酯”状态。当前药在体内经酶催化暴露出羟基后，由于形成内酯的分子内反应具有很高的有效摩尔浓度(effective molarity)，迅速地释放出原药，而无需增加分子间反应速率。当然，原药与内酯载体形成的共价键要有足够的稳定性，防止在制剂时或吸收前被水解。为此，将亲核基团(羟基)酯化时，要调节酰基的结构，以提高酶解的特异性。例如，4,4-二烷基(或螺烷基)-(*Z*)-丁-2-烯酸内酯是个良好的载体，该不饱和羟基酸将药物酰化，羟基被另一羧酸酯化成 374(如果是肽类药物，此时与其连接成环状前药)，在体内被酯酶水解后，游

离出的羟基对酰基作分子内亲核取代(375)，生成不饱和内酯(376)，游离出原药。此外，内-3-(羟甲基)-双环[2,2,2]-辛-5-烯-内-2-羧酸(377)和苯酞(378)也是前药的载体[126]。

374　375　376　377　378

含羟基的药物制成邻羟苯基氨甲酸酯(379)或 2-羟基-3-苯氧基丙胺甲酸酯(380)前药，也是基于载体的游离羟基具有亲核性(A)，生成环状的乌拉坦(B)，释放出原药[127]。这类氨甲酸酯前药的半衰期相差很大，由数秒到数百天，取决于原药的离解速率。

379　380

邻羟基苯丙酸衍生物具有内酯化倾向，苯环和侧链上适当的甲基取代对环合有促进作用，所谓“三甲基锁”(trimethyl lock)前药就是根据这一结构特征设计的。酚羟基经羧酸或磷酸酰化生成的特异性酯，对酯酶[128,129]或磷酯酶[130]的水解作用敏感，增加前药的选择性作用。如果药物分子中兼有氨基和羧基，例如寡肽类药物，可用三甲基锁载体将这些极性基团同时屏蔽，进入体内后通过酯酶水解，并经分子内亲核取代，释放出原药。图 11-19 是以三甲基锁为载体的前药及其释药过程。

图 11-19　以三甲基锁为载体的前药及其释药过程

例如六肽 H-Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-OH(381)含有游离氨基和羧基，形成两性离子难以穿过细胞膜，合成的三甲基锁环状前药(382)，其过膜速率比原药高 70 倍，是对酯酶敏感的前药，与血浆温育的半衰期为 508 min[131]。

H–Trp–Ala–Gly–Gly–Asp–Ala–OH

381　　382

邻羟基-*Z*-苯丙烯酸容易环合生成香豆素，香豆素无生物活性，是个良好的载体。按照类似于三甲基锁的环合模式，制成香豆素类前药可掩饰原药分子中的极性基团，提高生物利用度[132]。例如，脑啡肽的端基氨基被酰化，羧基将酚羟基酯化，由于氨基和羧基完全被掩盖，形成中性的前药，增加了生物利用度，在酯酶的存在下易释放出原药[133]。图 11-20 是以香豆素为载体的前药及其释药过程。

酯酶　　+ CO_2 +　　+ 肽药物

图 11-20　以香豆素为载体的前药及其释药过程

抗血栓药物 IIb/IIIa 糖蛋白受体拮抗剂替罗非班(tirofiban，383)由于含有仲氨基和羧基，形成内盐而难以吸收，制成香豆素的前药(384)克服了该缺点，为可口服的前药[134]。

383　　384

11.4.2.9　利用酶促反应或特异性结合设计前药

在前药设计中，靠体内化学水解作用有较大的局限性。如果原药与载体的键合过于牢固，释放原药的速率会因太慢而难以产生足够的有效浓度；若水解作用过快，又会出现化学稳定性问题，设计酶促释放前药可以克服上述缺点。例如利用酯酶、脂酶、肽酶或磷酯酶等[135]处于细胞膜上的特点，可提高选择性作用，是由于前药在肠黏膜进入细胞的过程中，水解出原药，被细胞摄入。

利用胰脂酶特异性地水解甘油酯的特点，可将难溶药物制备成含有甘油酯的前药，既提高了水溶解度，也增加了脂溶性，而且保持了可被胰脂酶水解的结构特征。在十二指肠中分泌的胰脂酶，可将前药水解释放出原药，其结构模式如图 11-21 所示。

RCOO RCOO O O O O 原药 2-甘油酯　RCOO RCOO O O O O 原药 1-甘油酯　RCOO RCOO O O O 原药 2-醚基甘油酯

图 11-21　以甘油酯为载体的前药结构类型

将苯妥英和睾酮制成不同类型的甘油酯前药，证明胰脂酶首先水解了脂肪酸酯，进而酯酶促使原药释放，改善了药代动力学性质[136]。

紫杉醇促使微管聚集稳定化，干扰细胞有丝分裂，是治疗卵巢癌的有效药物,但由于其水溶解度很低，现用的注射溶剂是聚乙氧化蓖麻油和乙醇(1:1)，制成的注射剂毒副作用较强。为克服因溶解度所造成的制剂困难，可用化学方法提高紫杉醇的溶解性。利用肿瘤细胞对特定分子(或结构片段)的识别性能，可设计三元缀合物[137]，即紫杉醇(PTX)-聚乙二醇(PEG)-蛙皮素(bombesin，BBN)缀合物(385)或与促胃液激素释放肽(QWAVGL)制成前药(217)。分子中聚乙二醇的作用是增加水溶性，BBN 或促胃液激素释放肽对癌细胞表面的受体有识别和结合作用，能够将缀合物带到肿瘤细胞表面。当前药进入癌细胞后，紫杉醇-聚乙二醇键被水解或酶解，释放出紫杉醇。该缀合物的水溶解性为 250mg/mL，抗癌作用比原药强 2.5 倍。

紫杉醇-聚乙二醇-bombesin　　紫杉醇-聚乙二醇-QWAVGL-NH_2

385　　386

利用靶细胞特有的酶活化前药，是提高药物选择性的重要方法。将抗癌药物制成含有酶底物结构的前药，在癌细胞的特异酶的作用下释放原药发挥治疗作用，这个原理称作前药单疗法(prodrug monotherapy)，该方法无需将酶与抗体偶联，也与抗体导向酶催化前药疗法(ADEPT)不同。

纤维蛋白溶酶(plasmin)是一种蛋白酶，在癌浸润和转移过程中，参与基质降解活化和肿瘤生长与血管生成等作用。纤维蛋白溶酶在体内主要以原酶形式存在，在癌组织中尿激酶样活化因子的作用下而生成。为了将抗癌药物如阿霉素和柔红霉素特异地导向癌组织起杀伤作用，将纤维蛋白溶酶的底物三肽经间隔基连接到阿霉素或柔红霉素分子上，得到图 11-22 所示的结构及其释药过程[138]。

R_1=H, R_2=H 柔红霉素前药

R_1 = OH, R_2=H 阿霉素前药

R_1=OH, R_2=Cl 阿霉素前药

水解位点

图 11-22　柔红霉素和阿霉素与三肽连接的前药

在纤维蛋白溶酶作用下，将底物样三肽片段水解，生成对氨基苄氧羰基化的中间体，该中间体经 1,6-消去反应消除了间隔基，游离出柔红霉素或阿霉素。这三个前药的毒性明显低于原药。

11.4.2.10　高分子作为药物载体

药物经共价键与合成的或天然的聚合物连接，变成高分子前药，可降低肾脏排除和增加药物作用时间，改善药代性质。细胞对这类前药的摄取和加工处理与小分子药物不同，需要对结构作特殊的安排。Ringstorf 提出的高分子前药的模型，是在高分子链上不仅键合药物，而且还连接其他基团以增加溶解度、体内分布、降低毒性和提高选择性等[139]。高分子前药可认为是以大分子作为载体的药物，调节药物的吸收速率和作用持续时间。

根据药物分子与聚合物化学键联的方式不同，高分子前药可以分成 3 种：第 1 类是药物单体与均聚物或共聚物的不同部位相连，连接的方式是直接结合在聚合物上，或经间隔基(spacer)相连；第 2 类是药物分子与聚合物轴向连接，此时药物分子与聚合物单体以随机方式或交替结合方式共聚结合；第 3 类是药物与聚合物单体共聚后经间隔基与聚合物的不同位置相连。这 3 类聚合物主链可以在体内

被生物降解，也可以是稳定的聚合物。为使聚合物前药能够特异性分布，分子中往往有导向基团(homing device)。图 11-23 是聚合型前药的模式图。

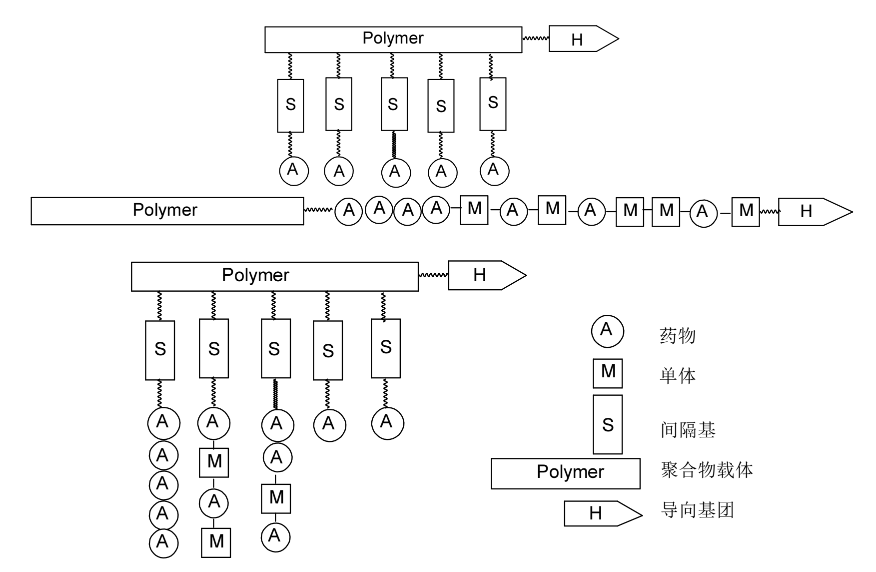


图 11-23　不同类型的聚合物前药模式图

药物分子之间的键合以及药物与单体间的键合在体内可以裂解。若药物分子直接连接在聚合物主链上会失去活性，所以通常把药物与间隔基团相连，间隔基固定在聚合物主链上。

聚合物载体可以是生物降解型，也可以是化学稳定的高分子。高分子药物的亲水-亲脂性可通过变换主链的结构和间隔基加以调节[140]。表 11-27 列出了一些高分子药物的组成方式。

表 11-27　高分子载体及其药物

高分子载体	药物	高分子载体	药物
N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺共聚物	阿霉素	聚(L-赖氨酸)	甲氨蝶呤
聚(1-乙烯基-2-吡咯烷酮-共聚马来酸酐)	奎尼丁, 5-氨基水杨酸	聚(L-天冬氨酸)	柔红霉素
聚(2-羟乙基)-D，L-天门酰胺		聚(1-乙烯基-2-吡咯烷酮-共聚-乙烯胺)	萘普生
	氯霉素	聚(2-羟乙基)-L-谷氨酰胺	丝裂霉素 C
聚-(苯乙烯-共聚-马来酸酐)	环磷酰胺，甲氨蝶呤	人血清蛋白	伯氨喹
聚(二乙烯醚-共聚-马来酸酐)	环磷酰胺，甲氨蝶呤		
右旋糖苷	普鲁卡因酰胺，柔红霉素	聚乙二醇	天冬氨酸酶
羧甲基右旋糖苷	干扰素，丝裂霉素 C，柔红霉素		胰岛素，布洛芬

聚 *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺是个无生物活性和免疫原性的载体，与阿霉素形成前药(387)的毒性显著低于原药阿霉素[141]。

387

右旋糖酐具有生物降解性，临床上用作血浆代用品，也常作为高分子药物的载体。为了与药物键合，常对右旋糖苷加以化学修饰，例如引入 6-溴己酸基，不仅作为间隔基，而且也赋予分子以负电荷；用 6-氨基己酸作间隔基可使分子带有正电荷[142]。这类前药的药代性质取决于聚合物的分子量和电荷数。图 11-24 是丝裂霉素和含有负电荷的右旋糖酐的前药。

图 11-24　丝裂霉素和含有负电荷的右旋糖苷的前药

聚-L-赖氨酸、聚-L-谷氨酸和聚(*N*-羟乙基)谷氨酰胺的连接性功能基处于侧链位置，可与药物相连接。L-氨基酸聚合物可生物降解，而 D 构型不能降解。聚赖氨酸作为载体的前药在血浆中呈正离子状态，可与细胞膜发生相互作用，但由于聚赖氨酸有一定毒性，常常用二元酸酰化，使毒性降低[143]。

11.4.3　生物前体药物

生物前体药物是指本身没有活性，但在体内经代谢活化而呈现药效的药物。机体对外源性物质的生物转化特别是 I 相代谢反应，遵循一般的规律，所生成的代谢活化产物是生物前体药物作为药物的依据。应用活性代谢物概念可以预测药物的命运，犹如有机合成中构建复杂分子的逆分析原理，生物前体药物的设计是由活性代谢产物逆推而成的，在体内经 I 相代谢的氧化、还原、裂解、转位、水合-脱水等单个反应或级联反应，生成具有活性的药物。

11.4.3.1　氧化活化

6-脱氧阿昔洛韦(6-deoxyacyclovir，388)是抗疱疹病毒阿昔洛韦(acyclovir，389)的生物前体药物，在体内被黄嘌呤氧化酶催化，6 位发生羟基化生成阿昔洛韦而呈现活性，也可以在 8 位发生羟化，生成阿昔洛韦的异构体(390)。

388　　389　　390

阿昔洛韦分子间发生氢键缔合，降低了水溶解性，口服生物利用度只有 20%，而 6-脱氧阿昔洛韦晶格能低，水溶性提高 600 多倍，生物利用度提高 5 倍[144]。抗肿瘤药环磷酰胺(cyclophosphomide)是氮芥的生物前体药物，本身无抗癌作用，在细胞内经过羟化、去烷基化(反迈克尔加成)和水解等级联反应，生成活性氮芥[145]。

催吐药阿扑吗啡(apomorphine)的亚甲二氧衍生物，如 10,11-亚甲二氧基-*N*-正丙基去甲阿扑吗啡(391)在体内可被肝微粒体氧化代谢成邻二酚类似物(392)而起效，这是一个首过效应将亚甲二氧变成邻二酚的活化实例。该生物前体药物具有口服有效、作用持久的特点[146]。

CYP氧化

391　　392

维生素 D_3(cholecalciferol，393)是人体骨骼和牙齿发育不可缺少的外源性物质，在肝脏微粒体作用下氧化成 25-OH-D_3(394)，呈现生理作用。进而在肾脏中被氧化，于 1 位氧化成羟基，生成 1,25-$(OH)_2$-D_3(395)，也是有生物活性的化合物。所以维生素 D_3 可认为是生物前体药物。1,25-$(OH)_2$-D_3 称为骨化三醇(calcitriol)，虽已化学合成并已临床应用，但 1-羟基维生素 D_3 (alphacalcidol，396)化学合成比较容易，它也是骨化三醇的生物前体药物，已在临床使用。

393 394 395 396

11.4.3.2 还原活化

实体瘤细胞的内环境有缺氧、缺少营养和低 pH 的特征[147]，在缺氧条件下，亚砜化合物可代谢还原成硫醚，而在正常组织和生理条件下，亚砜主要是氧化成砜基。在肿瘤组织中，生成硫醚基推电子性强于亚砜基，增加了芳香氮芥的电荷密度，提高了氮芥基的亲电性。对-甲基亚砜基苯基氮芥(397)是生物前体型前药。在正常组织中，对位甲基亚砜基的拉电子作用，使氮芥的氮原子的孤电子对不易发生分子内亲核取代，难以生成活性的乙烯亚氨离子，因而细胞毒作用较弱。但在肿瘤细胞中被还原成对-甲硫醚基(398)，使氮芥基活化[148]。

397 398

非甾体抗炎药舒林酸(sulindac，399)为亚砜基药物，在体内可逆地还原成硫醚(400)，进而不可逆地氧化成砜(401)。舒林酸本身无活性，只有还原成硫醚可抑制环氧合酶和血小板聚集，呈现抗炎作用[149]。

400 399 401

抗消化道溃疡药奥美拉唑(omeprazole)是通过抑制 H^+/K^+-ATP 酶阻止各种因素引起胃壁细胞分泌胃液的。奥美拉唑本身对 H^+/K^+-ATP 酶无抑制活性，但在胃壁细胞的酸性微环境中变成环状亚磺酰胺(sulfenamide)，后者有一定的亲电性，可与酶的-SH

基形成二硫化物，使 H^+/K^+-ATP 酶失活。图 11-25 是奥美拉唑在体内的活化过程。

奥美拉唑　H^+　Smiles 重排　环状亚磺酰胺　酶-SH

图 11-25　奥美拉唑在体内的活化过程

奥美拉唑以及兰索拉唑、泮托拉唑等作为 H^+/K^+-ATP 酶抑制剂生物前体药物，其特点是吡啶环的弱碱性趋向于有微酸性的胃壁细胞中，在酸性介质中，经重排、还原及分子内亲核取代反应，生成活性物质吡啶鎓盐，被封闭在胃壁细胞中，而上述活化过程较少在中性细胞中发生，因此，“拉唑”类药物可认为是部位特异性转运和活化的前药[150]。

α-卤甲基醌(402)不具有生物烷化作用，而是生物烷化剂的前药。在体内还原生成卤甲基氢醌(403)，酚羟基的电荷密度有助于卤离子的离去，形成亚甲基半醌(404)，为亲电性基团，对生物大分子发生烷化作用(405)[151]。

体内还原　$-HX$

402　403　404　405

11.4.3.3　其他类型活化

芳酰丙酸如芬布芬(fenbufene，406)、布氯酸(bucloxic acid，407)和呋罗布芬(furobufene，408)等解热镇痛药是相应芳乙酸的生物前体药物。在体内经还原、氧化、水合-脱水等多步反应而生成活性药物[152]。

还原　脱水　加成

406

407　　408

叔胺类 *N*-脱烷基化代谢过程是某些生物前体药物的机制所在，例如氨基二苯酮类及肽基二苯酮在体内 *N*-脱烷基化可发生关环反应，生成具有镇静和安定作用的苯二氮䓬化合物，因而它们是生物前体药物。例如化合物 409 在体内经 *N*-脱烷基和环合作用，生成三唑仑(triazolam，410)，是超短时的镇静催眠药[153]。

409　　410

含有肽链的胺基二苯酮(411)也可发生类似的环合作用，生成苯二氮䓬(412)，因而也是生物前体药物。

411　　412

毛果芸香碱(pilocarpine，415)是含有内酯片段的化合物，内酯环可用化学方法制成双酯(413)，即羟基和羧基分别被酯化，二酯化产物在水中非常稳定，但在体内被酶促水解，脱去酰基，生成羟基单酯(414)，然后发生分子内亲核取代反应，环合成毛果芸香碱。双酯提高了向角膜透入的能力，水溶液化学稳定性高，而且生物转化成毛果芸香碱的速率也适宜，因此是作为眼科用药的优良的生物前体药物[154]。

酶促水解　　SNi

413　　414　　415

其他类型的生物前体药物和相对应的活性产物列于表 11-28 中。

表 11-28　生物前体及相应的活性产物

生物前体	活性产物
1.乙酰苯胺	1.对乙酰氨基酚
2.别嘌呤醇	2.别嘌二醇
3.胂凡那明	3.氧苯胂
4.水合氯醛	4.三氯乙醇
5. β胡萝卜素	5.视黄醛
6.氯胍	6.环氯胍

续表

生物前体	活性产物
7.氯贝特	7.氯贝酸
8.可待因	8.吗啡
9.环磷酰胺	9. 醛磷酰胺
10.丙咪嗪	10.去甲丙咪嗪
11.左旋多巴	11. 多巴胺
12.硫蒽酮	12.海蒽酮
13.美芬妥因	13. 去甲美芬妥因
14.Parathion	14.Paraxon

续表

生物前体	活性产物
15.非那西丁	15.扑热息痛
16. 保泰松	16. 羟基保泰松
17. 扑米酮	17. 苯巴比妥
18. 普萘洛尔	18. 羟基普萘洛尔
19. 硫喷妥	19. 戊巴比妥
20. 甲硫哒嗪	20. 美索哒嗪

11.5　软　　药

11.5.1　定义和原理

软药(soft drug)是指一类本身有治疗效果或生物活性的化学实体，当在体内起作用后，经可预料的和可控制的代谢作用，转变成无活性和无毒性的化合物，而

且这种代谢作用一般是简单的一步反应。软药一语，是指对代谢作用脆弱，容易被代谢失活的药物。软药与前药不同，前药是无活性的化合物被代谢活化，软药是活性药物被代谢失活，两者在设计原理上是完全相反的理念[155]。药物从是否容易被代谢转化的意义上看，与软药相对的是硬药(hard drug)，是指不能被机体代谢的化合物，或者不易被机体代谢、或要经过多步氧化或其他反应而失活。硬药的化学性质可能是脂溶性很强的物质，或者是因位阻效应分子中化学敏感的基团不易被代谢，储积于体内，以致消除半衰期比较长。

设计软药的目的是希望药物起效后，随即经简单代谢转变成无活性和无毒性物质，因而减少了药物的毒副作用，增高了安全性和治疗指数。

11.5.2　软性类似物

软性类似物(soft analog)是指结构上与已知的有效药物相似，但存在有特定的代谢敏感点。这类药物一旦呈现作用后，迅速经一步反应代谢成无活性的化合物，避免产生不良反应。代谢敏感部位一般是容易水解的酯键。例如具有生物活性的软性季铵盐，在起效后被化学或酶促水解，断裂了酯基，失去了季铵离子而失效。这类药物的合成反应和水解作用有如下的通式：

$$R_1-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-X + R_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H \longrightarrow R_1-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-\underset{H}{\overset{R_2}{C}}-X \xrightarrow{-N<} R_1-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-\underset{H}{\overset{R_2}{C}}-\overset{+}{N}\equiv \quad X^- \quad \text{合成反应}$$

$$R_1-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-\underset{H}{\overset{R_2}{C}}-\overset{+}{N}\equiv \longrightarrow \left[H-O-\underset{H}{\overset{R_2}{C}}-\overset{+}{N}\equiv\right] + R_1COOH \longrightarrow R_2CHO + -N< \quad \text{水解反应}$$

抗菌药氯化十六烷基吡啶鎓(416)的软药是其电子等排类似物氯化 *N*-吡啶鎓甲醇十四碳酰酯(417)。用酯键代替长链上β-和γ-碳原子，水解后生成十四碳酸、甲醛和吡啶。

$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2CH_2-\overset{+}{N}C_5H_5\ Cl^-$　　　$CH_3(CH_2)_{12}\underset{O}{\overset{}{C}}OCH_2-\overset{+}{N}C_5H_5\ Cl^-$

416　　　417

又如软性抗胆碱药(418)有很强的局部抗胆碱作用，但无全身性作用[156]。在结构上酯基的氧桥与季铵离子只相隔一个碳原子，局部起效后水解生成羧酸、甲醛和叔胺。而抗胆碱能硬药 *N,N*-二甲基哌啶鎓醇酯(419)的氧原子与季铵离子相隔 3 个碳原子。相隔 2 个碳原子时为胆碱能激动剂。

418　　419

11.5.3　活化软性化合物

另一类软药称作活化软性化合物(activated soft compound)，设计原理是在无活性和无毒性化合物结构中加入药效团，赋予化合物一定的药理活性。这类化合物不是已知药物的结构类似物。在体内起效后，药效团转变成无效基团，成为无毒无活性物质。

活化软性化合物通常没有特定的结构要求或限制，因为并不指望软药整体分子与受体作用，只是将活化基团释放到希望呈现作用的部位上。例如设计局部应用的 *N*-氯胺类抗菌药，可以将氨基酸、氨基醇酯、酰胺或酰亚胺等作为母体，合成的 *N*-氯胺化合物是可产生 Cl^+离子的稳定化合物，在进入细菌细胞壁的前后，可释放出 Cl^+，产生杀菌作用和原来的胺：

$$>N-Cl + H_2O \rightleftharpoons >N-H + HOCl$$

$$HOCl \rightleftharpoons Cl^+ + OH^-$$

通常的氯胺化合物因稳定性较低，难以作为抗菌药。但若α-碳上无氢原子的酰胺或氨基酸 *N*-氯代化合物，则有较低的产氯势能，因而腐蚀性较低，例如下列的化合物可作为抗菌药：

"软性烷化剂"(soft alkylating agent)也属于活化软性化合物，其结构特征是，脂肪酸或芳香酸的醇酯的醇基部分，α-碳上有卤素原子。这种α-卤代酯是比较弱的烷化剂，有可能转运到肿瘤细胞过程中，不致因较强的烷化作用，对机体成分发生无选择的烷基化作用。另一方面，软性烷化剂作为活化酯，因水解而失活，所以毒性低于常规用的烷化剂。例如己酸氯甲醇酯(420)对 P388 白血病有明显的抗癌活性，但毒性较小。

420

11.5.4　活性代谢物原理

大多数药物在体内会发生多次代谢转化，产生有活性的或无活性的代谢中间体。这些不同阶段的代谢产物与原药的药代动力学性质和药效学是不相同的。例如丁呋洛尔(bufuralol，421)的芳环和乙基的不同氧化产物，其血浓度、生物半衰期、药效学和毒性都有差异。

R_1	R_2
CH_2CH_3	H（丁呋洛尔）
$CH(OH)CH_3$	H
$COCH_3$	H
CH_2CH_3	OH

421

根据药物代谢的一般原理和规律和对软药设计的要求，活性代谢物本身应有药理活性，而且有比较高的氧化态结构或接近最终代谢阶段，因而在呈现药效后，只经过简单一步的体内反应，就会变成低活性或无活性的代谢产物，这样的软药在药代、药效和毒理等方面，有容易控制的特点。

11.5.5　内源性物质作为天然软药

内源性物质，例如皮质激素或性激素等甾体激素或多巴胺和γ-氨基丁酸等神经递质，可认为是天然的软药。因为这些内源性物质在履行了生理和生化功能后，机体会迅速而高效地将其代谢失活，避免蓄积或生成活性中间产物而持续作用，这个特点是生物进化的结果。如果由这类天然的内源性化合物制成软药，使用的剂量或浓度接近于体内正常水平，就不会在呈现药效的同时或以后，引起不良反应。这类软药的设计是把内源性物质与化学转释系统(chemical delivery system)相结合，赋予该软药有控释于特异性部位和局部作用的特性，以达到较高的治疗指数。

例如，氢化可的松虽然是内源性糖皮质激素，但长期应用会引起皮肤萎缩和胸腺退化等副作用。为了减少这种作用，提高氢化可的松的选择性，可与化学转释系统相连，制成本身无活性的衍生物。这种衍生物只在皮肤停留，经化学作用慢慢释放出氢化可的松，机体迅速、完全地使其失活而不产生蓄积和不良反应。例如氢化可的松的 3-螺噻唑烷衍生物(422)，因为不存在α, β-不饱和酮结构，失去了氢化可的松与受体的特异性结合和亲和力。实验表明，氢化可的松乙酸酯-3-螺噻唑烷的抗炎活性与毒性之比，是氢化可的松乙酸酯的 6.8 倍，表明以转释形式

在局部释放氢化可的松，降低了全身性不良反应。

422

转释的化学过程是螺噻唑烷环的分步水解。首先，开环生成巯基化合物，与组织成分反应生成二硫键，固定于转释部位，就地水解出氢化可的松,如图 11-26 所示。

图 11-26　3-螺噻唑烷氢化可的松软药的局部作用

同样，睾酮或黄体酮的 3-螺噻唑烷衍生物也因有转释特性，作为软药局部应用有较小的全身毒性。

11.6　用作药物转释系统的单克隆抗体

抗体对于相应的抗原有高度的识别能力和特异性结合，因而将抗体作为载体与药物相连接，应显示很强的靶位特异性和选择性，将药物转释到有表面抗原的细胞和组织处，可减少药物向非靶位的分布和结合，从而降低毒副作用。例如抗肿瘤药物通常毒性较强，当药物与肿瘤细胞的抗体经化学键结合，生成抗体-药物缀合物，由于抗体具有向表面抗原的导向作用，提高了药物趋癌细胞能力和杀伤癌细胞的选择性，因而减低了对正常组织的损伤。

11.6.1　抗体作为载体

抗体作为药物载体的最大困难是它的不均匀性。例如用单一的化学抗原免疫

家兔得到的抗体血清，虽然能够识别抗原，但组成抗体的免疫球蛋白是复杂的混合物，蛋白质的分子大小不一、氨基酸连接顺序不同，造成对抗原的亲和力和特异性结合的不均匀性，这种不均匀的抗体本身或抗体-药物偶联物进入体内，会表现出存留时间的不一致：有的抗体分子迅速降解，从体内排出，而有的生物半衰期却很长。此外，制备这类多克隆抗体的重现性也比较差。

虽然有以上缺点，多克隆抗体作为药物的载体或转释系统仍有可取之处，例如可识别某靶点的多个特异位点，因而转释药物的容量较大，还可用多种动物生产多克隆抗体，而单克隆抗体只限于由啮齿动物产生。

11.6.2　单克隆抗体

由于骨髓瘤可以产生均匀的免疫球蛋白，这种瘤细胞与产生抗体的细胞进行融合，生成的杂交瘤细胞及其后代可产生大量的均匀抗体。例如用抗原免疫的小鼠，数周后取其脾脏的淋巴细胞和血浆细胞，在体外与骨髓瘤细胞融合，产生的杂交瘤细胞不仅能够存活，还可用于培养繁殖子代。在培养杯的上清液中可筛选对所研究的抗原产生专一的抗体分子的细胞，有阳性反应的培养杯中的细胞再克隆化，并重复筛选，直至获得单一的杂交瘤细胞。这种细胞可用人工培养液大量培养，也可以注射入小鼠体内诱导产生杂交瘤，生成的杂交瘤可以分泌由脾脏亲本细胞所规定的专一性强、组成均一的抗体。

免疫球蛋白由 4 个多肽链亚基构成，两个链含有大约 200 个氨基酸，称作轻链(L 链)，另外两个链含有 400 个氨基酸，称作重链(H 链)。每个轻链与重链由 1 个二硫键和 1 个氢键相连，2 个重链之间至少有 1 个二硫键相连。所以免疫球蛋白的亚基结构可表示为 L2H2。电子显微镜研究表明，免疫球蛋白的形状类似于 Y 形，图 11-27 是免疫球蛋白结构示意图。

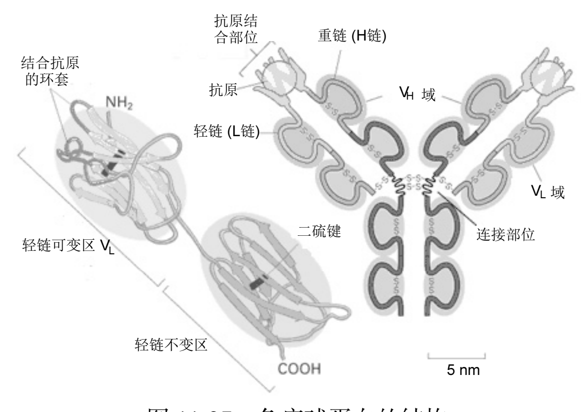


图 11-27　免疫球蛋白的结构

轻链和重链的氨基酸组成和次序有可变区，分别用 V_L 和 V_H 表示，处于肽链的氨基端。可变区氨基酸特定的序列确保与抗原作特异性结合；轻链和重链还有次序恒定的不变区，用 C_L 和 C_H 表示，不变区具有介导共同效应物的功能。可变区与不变区是截然分开的。

11.6.3　药物与单克隆抗体的偶联

11.6.3.1　偶联基团和反应

为了用单克隆抗体完成药物向靶位的传输，药物与单抗的偶联方法应满足一定的要求。首要的条件是保持它们各自的活性以及偶联物在转运过程中保持化学稳定性。为此，偶联反应应在温和的条件下进行，避免降低抗体-抗原结合的特异性和容量，释出的药物应保持原来的活性。所以偶联的化学键不宜太强或不稳定。通常连接用的功能基有氨基、羧基、邻二醇、邻二巯基、酮基等，表 11-29 列出常用的偶联剂和生成的产物类型。

表 11-29　药物-单克隆抗体偶联的常用方法

药物和单抗	缩合剂		偶联产物的功能基
$RCOOH+R'NH_2$	碳二亚胺	$H_5C_2N=C=(CH_2)_3N(CH_3)_2$	$RCONHR'$
	混合酸酐	$ClCOOCH_2CH(CH_3)_2$	
	N-羟基琥珀酰亚胺	HO–N（琥珀酰亚胺环，两个 C=O）	
$RNH_2+R'NH_2$	戊二醛	$OCH(CH_2)_3CHO$	$RN=CH(CH_2)_3CH=NR'$
	N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫)丙酸酯	吡啶基–S–S(CH₂)₂COO–N（琥珀酰亚胺环）	$RNHCO(CH_2)_2\text{-}S\text{-}S\text{-}(CH_2)_2CONHR'$
$R(OH)_2+R'NH_2$	溴化氰	CNBr(剧毒)	R（环，两个 C=O）=NR'
	高碘酸钠	$NaIO_4$	
	琥珀酸酐 戊二酸酐	（琥珀酸酐结构）和（戊二酸酐结构）	$RO(CO)(CH_2)_{2\text{-}3}CONHR'$
	氯乙酸	$ClCH_2COOH$	$ROCH_2CONHR'$

续表

药物和单抗	缩合剂	偶联产物的功能基
RNH_2+R′SH	SMPB	RNHC(=O)$(CH_2)_3$-C$_6$H$_4$-N(succinimide)-SR′

免疫球蛋白分子中通常含有较多的亲水性氨基酸，例如赖氨酸、天冬氨酸和谷氨酸等残基，这些极性氨基酸提供了游离的氨基或羧基侧链，可用于化学偶联。例如赖氨酸的末端氨基是与药物偶联的优选部位，所以结合部位常发生于此处。药物分子中若含有羧基，可用常规方法将羧基经活化与ε-氨基形成酰胺。如果药物分子中含有氨基，可用含双功能基的连结剂偶联，如戊二醛、琥珀酸、己二酸、SPDP 等。偶联基的性质和长度对药物的结合容量和选择性有重要影响。

阿霉素和柔红霉素分子中的氨基糖可与赖氨酸残基的ε-氨基偶联，糖基经高碘酸钠氧化与单抗的氨基相连，或用顺式-乌头酸将柔红霉素和赖氨酸的氨基相连接。

由于不同的单克隆抗体性质变化很大，所以药物与抗体的偶联方法与产生的偶联物的选择性和结合容量之间，难以归纳出普遍性的规律。例如用叠氮酸法将长春花生物碱(vinca alkaloid)偶联于不同的单抗，药物与抗体结合的最高摩尔比范围可为 3:1~10:1；与某种单抗偶联为 6:1 时，抗体活性可保持 98%，而与另种单抗的结合比为 4:1 时，抗体活性只存留 2%。像这样只保留 2%活性的抗体可能是被偶联的赖氨酸残基处于或接近于与抗原相结合的部位，因此需改换偶联方法。

11.6.3.2　免疫脂质体的修饰

脂质体(liposome)是由一层或多层平行的磷脂胆固醇组成的类双脂质层构成的球形载体，在药剂学中，脂质体将药物包封于双分子层内而形成微型泡囊体，以避免机体对药物的代谢。当分散于水相时，分子的疏水尾部倾向于聚集在一起，避开水相，而亲水头部暴露在水相，形成具有双分子层结构的封闭囊泡，称为脂质体。当包含有药物的脂质体到达作用部位，由于生物降解作用，微型的脂质体破裂，释放出药物。另外，将单克隆抗体或单抗片段键合于脂质体上，称为免疫脂质体(immunoliposome)，此时抗体作为导向装置，将包封有药物的脂质体转运到含有表面抗原的细胞处，释放出药物，因而提高了向靶位细胞分布和结合的特异性。

抗体与脂质体表面连接的方式有两种：一种是使磷脂分子衍生化，例如将磷

脂乙醇胺(PE)参入到脂质体中，PE 中的氨基再与抗体共价键合；另一种是把抗体分子中亲水基团用化学方法连接疏水性锚基(anchor group)，生成两性分子。在制备脂质体时，以非键合方式锚合于双脂质层上。形成的抗体-脂质体结合物应满足以下要求：①有可重复性；②脂质体表面应结合有足够量的抗体；③在储存过程和进入体内应有足够的化学稳定性；④仍保留抗体的导向和识别抗原能力；⑤ 脂质体与抗体结合时应保留其完整性。

常用的结合方法是用双功能偶联剂将脂质体和单抗相连，例如用 *N*-[4-(对-马来酰亚胺基苯基)丁酰]磷脂乙醇胺(MPB-PE)或用 *N*-[3-(2-吡啶二硫代)丙酰]-磷脂乙醇胺(PDP-PE)。连接方法如图 11-28 所示。

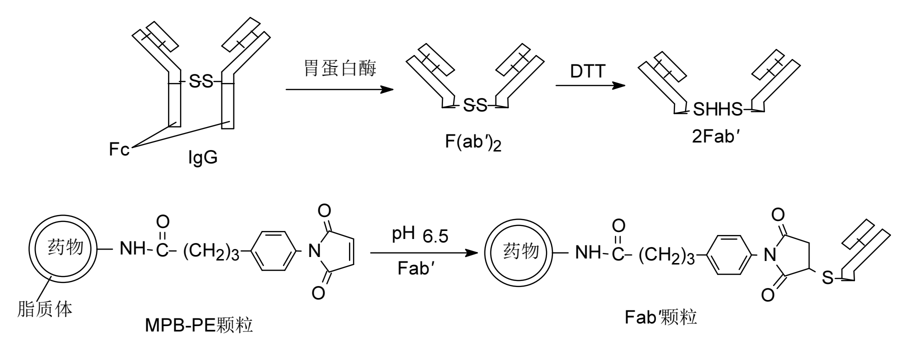


图 11-28　Fab′片段与 *N*-[4-(对-马来酰亚胺基苯基)丁酰]磷脂乙醇胺的偶联示意图

单克隆抗体经胃蛋白酶处理生成二聚体 F(ab′)$_2$ 片段，后者用二硫苏糖醇(dithiothreitol，DTT)还原生成单体 Fab′，然后与含有 MPB-PE 的脂质体反应，Fab′的巯基加成到马来酰亚胺双键上，形成稳定的硫醚交叉连接键。PDP-PE 与单抗连接方式如图 11-29 所示。

图 11-29　Fab′片段与 *N*-[3-(2-吡啶二硫代)丙酰]磷脂乙醇胺的偶联示意图

Fab′单体与含有 PDP-PE 的脂质体于 pH 8 条件下反应，Fab′-SH 的巯基与吡啶二硫键发生取代反应，生成稳定的由二硫键相连的脂质体和单抗的偶联物。

单克隆抗体与脂质体间的最佳距离需经实验确定，没有共同的规律。一般而言，用单抗的片段(Fab′)时较短的距离为宜，因为免疫脂质体和靶细胞之间距离会很短，这有利于细胞吞噬(endocytosis)和扩散，但是为使抗体与抗原有利于相互作用，抗体与脂质体间距离又以较长为宜。免疫脂质体与靶细胞的作用过程可用

图 11-30 示意。

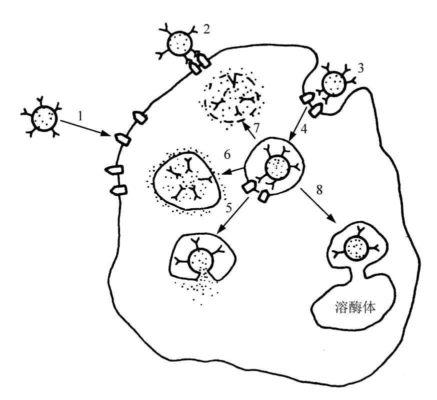


图 11-30　免疫脂质体进入靶细胞过程的示意图

过程如下：①带有抗体(Y)的免疫脂质体与具有抗原表达的靶细胞识别；②免疫脂质体与细胞表面抗原结合；③受体介导的细胞摄粒作用，细胞表面发生凹陷；④免疫脂质体进入细胞内成为核内体(endosome)；⑤对 pH 敏感的免疫脂质体的核内体膜融合，脂质体内的药物释入胞浆中；⑥脂质体内的药物泄漏并释入胞浆；⑦核内体液泡破裂，使脂质体内药物释放；⑧溶酶体使核内体融合，使 pH 不敏感的免疫脂质体转释到溶酶体中。

11.7　抗体导向酶催化前药治疗法

11.7.1　设计原理

抗体导向酶催化前药疗法(antibody-directed enzyme prodrug therapy，ADEPT)是一种治疗方法，是利用抗原-抗体识别与结合的原理，将与抗体结合的酶携带到富集表面抗原的组织细胞处，特异性酶催化致活前药以达到提高药物治疗的选择性的目的。肿瘤化疗药物的关键是提高选择性作用，用这种方法将药物特异地浓集在肿瘤组织中并发挥杀伤作用，可降低毒副作用。

由肿瘤细胞的表面抗原获得的单克隆抗体，特别是人源性单抗，对有相应抗原的瘤细胞具有特异的抗原-抗体识别和结合作用。利用单克隆抗体的导向和识别功能，将单抗与活化前药的酶分子经键合形成偶联物，注射到含有对应抗原的人体或动物体内，单抗携带偶联物聚集到有表面抗原的癌细胞周围。经一段时间后，体内给以前药，癌组织附近的酶将前药转变成活性形式，发挥治疗作用。而在正常组织中，由于缺乏抗原，含酶的偶联物较少分布，前药不会被活化，因而避免了不良反应。图 11-31 是 ADEPT 的示意图。

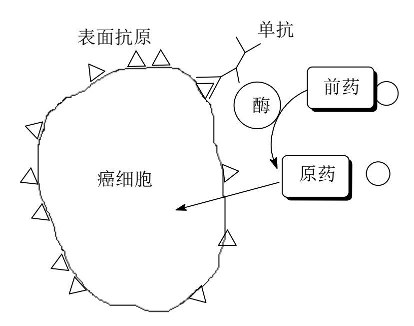


图 11-31　ADEPT 的示意图

ADEPT 包含的两个环节体现了受体-配体的互补性原则：一是单克隆抗体对抗原的高度识别与结合，因而将酶携带到癌细胞处；另一是酶作用于前药的特异性，将前药活化成有活性的原药，对癌细胞呈现细胞毒作用。

利用酶反应速率高的特点，ADEPT 可迅速将原药从前药中释放出来。一般一个酶分子每秒钟可转化 800 个前药分子，所以只要在肿瘤组织附近有一定量的单抗-酶偶联物，就会催化生成高浓度的活性药物。

为了保障对正常组织不产生毒性，所用的酶以人体内不存在的酶为首选，例如常用外源性细菌酶，以避免人固有酶的催化活化作用，使得前药与原药的细胞毒作用有较大差别。抗癌药物对于增殖细胞和静止细胞的毒性是相同的，所以选择性作用是克服毒性的关键。活性药物一旦形成，应有较短半衰期，就地发挥作用，应防止进入血液循环和扩散到正常组织中。用于 ADEPT 的药物多半是生物烷化剂或核酸嵌合剂制成的前药。活化后的药物与靶标的结合是不可逆反应，因而在进入癌细胞后，药物不会返回到血液中。氮芥类药物对于细胞周期的干预是非特异性的，可杀伤需氧细胞和厌氧细胞，且容易水解成无毒物质，而且癌细胞不易对氮芥产生耐药性[157]，因此氮芥类药物较适于 ADEPT 方法。

11.7.2　设计原则

11.7.2.1　对偶联物的要求

构建抗体-酶偶联物的一个重要前提，是保持抗体对抗原的识别和结合能力，以及酶的催化活性，即将两个蛋白经化学键合后，既不改变抗体的识别和结合性质，也保持酶的催化能力。而且，两种蛋白的偶联键化学上应是稳定的，因为在给予偶联物后到给前药之前，有一定的时间间隔，最长可达 72h，以便使未与表面抗原键合的偶联物“原封不动”地自血液循环中排出，此时与抗原结合的偶联物不应发生变化。键合的方式常常采用硫醚键。

11.7.2.2　对酶的要求

为了实现 ADEPT 对前药的活化，酶的选择非常重要。在生理条件下，酶应有活性，无免疫原性，并且最好不是人体的内源性酶。由于抗体的运载量有限，要求酶有较高的特异性和催化效率，即少量的酶分子可将前药转变成活性药物。如果是人源性酶，应是细胞内酶，以避免在血液中的前药被激活。

11.7.2.3　活性评价

ADEPT 可用体外和体内方法评价。体外方法用以评价偶联物对活化前药的有效性和特异性，体内方法进一步评价偶联物的亲组织性、安全性和有效性。所以，建立 ADEPT 系统有一系列的优化问题，例如偶联物的构建，消除酶的免疫原性，采用人源性抗体和抗体片段的优化，前药的结构优化等。上述多方面的优化，需要较长的时间的研究和巨大的投入。

11.7.3　举例

11.7.3.1　羧肽酶 G_2

羧肽酶 G_2(carboxypeptidase G_2，CPG_2)广泛应用于 ADEPT 的设计，该酶可裂解肽链的酰胺键，同时将前药活化。例如氮芥苯甲酰谷氨酸，在氮芥的对位有吸电子的酰胺基，降低了氮芥基团的亲电性，因而细胞毒作用较低。当酰胺键被酶促水解，生成氮芥苯甲酸，游离的羧基在体内 pH 环境下离解成负离子，负电荷的推电子作用，增加了氮芥基的亲电性，活化了氮芥的烷化作用[158,159]。

该方法已用于临床试验。若氮芥基中的一个氯乙基被甲磺酰氧乙基替换得到的前药 MMCI(423)，作为酶的底物优于相应的氮芥，水解得到的原药 424 有强细胞毒作用。

羧肽酶G_2

423　　424

体外用 JAR 绒毛膜癌细胞试验表明，癌细胞与 424 合用 CPG_2 温孵，抑制作用 IC_{50}=20μmol/L，而 423 本身没有抑制活性，IC_{50}>800μmol/L，说明酶对前药的激活作用提高近 100 倍。体内试验是用 hCG 表达的人 CC3 绒毛膜癌移植在裸鼠

体内，将 W14(抗 hCG)F(ab′)$_2$-CPG$_2$ 偶联物注射 72h 后，给 424 以 30mg/kg，试验肿瘤完全消失，可延缓肿瘤生长 50 天以上，而注射其他抗肿瘤药物均不能延缓肿瘤生长。

11.7.3.2　碱性磷酸酶

为了提高依托泊酯(425)对肿瘤组织的选择性，可制成磷酸酯前药(426)，利用碱性磷酸酶与单克隆抗体的偶联物的浓集和催化作用。碱性磷酸酶对人体没有免疫原性，它对底物的结构特异性要求不高，所以可活化多种类型的前药。人的碱性磷酸酶与人源性单抗的偶联物，与前药合用时，在正常组织中前药也会被水解而产生毒性。为此，用牛小肠的碱性磷酸酶与抗体偶联，提高了特异性。例如，在牛碱性磷酸酶-单抗偶联物的作用下，在肿瘤组织附近的前药 426 转变成原药 425，而用牛碱性磷酸酶与无关抗体的偶联物，无抗肿瘤作用，不延长荷瘤小鼠的生命[160,161]。*N*−羟乙基丝裂霉素 C(427)制成磷酸酯(428)同样提高了选择性作用，体内试验表明可以延长人结肠癌移植小鼠的存活时间。

425　426

427　428

11.7.3.3　糖苷酶

羟基苯胺氮芥(429)可迅速被肝脏酶转化成葡醛酸苷(430)而失去细胞毒活性，若增高内源性*β*-葡醛酸苷酶的水平又可将羟基苯胺氮芥致活[162]。大肠杆菌含有*β*-葡糖苷酶，可水解*β*-糖苷键，化合物 430 作为前药可被*β*-葡醛酸苷酶水解。将大肠杆菌*β*−葡醛酸苷酶偶联于人结肠癌细胞的抗体 12.8，可在体外特异地活化羟基

苯胺氮芥葡醛酸苷前药，抗癌活性 IC_{50}=34 μmol/L，而只用前药但不用抗体−酶偶联物时，IC_{50}=1890 μmol/L[163]。

429　　430

CC-1065(431)是从微生物分离的抗癌抗生素，作用靶标是与 DNA 双螺旋的小沟结合，优先作用于 5′′d(A/GNTTA)-3′和 5′′-d(AAAAA)-3′片段。分子中含有的螺环丙烷共轭于α, β−不饱和酮，作为亲电基团，可将 3′-腺嘌呤的 N3 烷基化，因此是多反应靶标的活性物质，但 CC-1065 毒性大不能直接药用。

431

CC-1065 的类似物 Seco CBI(cyclopropa(c)benz(e)indol-4-one)galactoside(432)是含有半乳糖苷的前药，在β-D-半乳糖苷酶催化下，生成中间体 433 和半乳糖，433 的氯原子有较强电负性，携带成键电子离去，生成螺环丙烷与α, β−不饱和酮 CBI(265)，后者具有细胞毒作用，对癌细胞抑制的 IC_{50}<10 nmol/L，而未被激活的前药 433 的 IC_{50}>10000 nmol/L。433 分子中氯虽连接于仲碳原子上，但由于空间位阻降低了对 DNA 的直接作用，只有当β-D-半乳糖基裂解后，游离的羟基向对位输送电子，推动了氯原子的离去，形成活化分子 434。

半乳糖苷酶

432　　433

434

前药 433 在半乳糖苷酶作用下，对癌细胞株 A549 和 panc Tu1 的抑制作用 IC_{50} 分别为 0.20 nmol/L 和 0.13 nmol/L。在无酶催化时 IC_{50} 为 1600 nmol/L 和 3140 nmol/L，提示该糖苷酶的催化激活作用。动物试验表明，静脉注射酶-人上皮细胞单抗偶联物 8 天后，每隔 2 天注射 264 20μg/kg，30 天后，肿瘤生长明显被抑制。该前药的另一优点是可溶解于水，故在被激活之前，不会透入细胞膜内，因而降低了毒性[164]。

11.7.3.4　*β*-内酰胺酶

β-内酰胺酶是细菌产生的分解*β*-内酰胺类抗生素的水解酶，哺乳动物体内没有此酶。将头孢菌素与细胞毒类药物如长春新碱或苯胺氮芥相连生成的前药，毒性显著降低。癌胚抗原的抗体与*β*-内酰胺酶的偶联物可提高这些前药的抗癌作用。小鼠接种肿瘤 9 天后给偶联物，96h 后给前药，72 h 后再重复治疗，小鼠在 60~80 天内无肿瘤生长。而单用偶联物或单用前药的对照组无效，用长春新碱的治疗组的有效率也低于试验组，说明这种联合疗法具有协同作用。图 11-32 表示抗体导向的酶促前药方法的原理[165,166]。

图 11-32　抗体导向的酶促前药方法的示意图

上述 ADEPT 的作用机制是，单抗携带*β*-内酰胺酶聚集于癌组织附近，而正常组织中分布的偶联物较少。随机转运的低活性前药在癌细胞处被*β*-内酰胺酶催化水解内酰氨键，一系列电荷转移，将长春新碱释放，就地对癌细胞起杀伤作用。

11.8 计算机辅助药物分子设计

11.8.1 一般概念

计算机辅药物助分子设计是药物化学的一个分支，是以计算机作为操作界面和辅助手段，利用计算化学、分子图形学、统计学和数据库等技术，研究药物和受体的相互作用，发现和设计新的生物活性分子的方法，在先导化合物的发现和优化合成中起重要作用。

计算机辅助分子设计的实际操作是进行计算化学(computational chemistry)和分子模拟(molecular modeling)，基于结构的药物设计是其中的重要组成部分，取决于靶标的三维结构是否已知。又可分为基于受体三维结构的分子设计，即所谓的直接设计法；另一是基于配体结构的设计，后者又可分为基于药效团的设计和定量构效关系的研究方法，又称间接设计法。

直接设计法是以生物大分子的三维结构为基础，借助 X 射线晶体衍射、二维核磁共振或同源蛋白模建获得受体或受体-配体复合物的三维结构及其数据，经计算机图形学再现并设计药物分子。

间接设计法是在不知道受体三维结构的情况下，从研究一系列药物分子对同一受体的活性出发，分析它们的结构变化与生物活性强弱的关系，揭示与受体能发生结合并产生活性的普遍的结构因素，即在计算机辅助下，找出药效团，并依据药效团的特征，设计或发现新的活性分子。基于二维和三维定量构效关系的分子设计，也属于间接的方法，已在第 6 章讨论。药效团模型特征和定量构效关系的方程或图形，反映了受体对配体或药物结构要求，是对受体结合部位的空间形状、电性分布和物化性质的映射。

11.8.2 生物大分子靶标

人体大约有 30000 个基因，其中绝大多数的功能尚属未知。假定基因产物蛋白质 10%(3000 个)是与疾病相关的、并可成为药物作用的靶标，那么这个数字是现今临床应用的药物作用靶标(共 324 个，其中人体靶标 266 个，微生物病原体靶标 58 个)的大约 10 倍。换言之，还有更多的蛋白有待研究与应用[167]。当前的研究的重点是处于细胞膜上的 G 蛋白偶联受体(GPCR)和各种激酶(kinase)。

11.8.3　结构信息

11.8.3.1　蛋白质三维数据库

生物大分子靶标的三维结构信息是药物分子设计的重要依据，生物大分子的结构信息主要来自 X 射线晶体衍射(固态)和核磁共振(液态)的测定。

如果没有蛋白三维结构的实验数据，可通过同源模建(homology modeling)方法建立蛋白质的三维结构。所谓同源模建，是对与已知三维结构的蛋白的序列相近的同源蛋白构建三维结构。同源蛋白的氨基酸序列若具有相似性，预示它们之间有相似的三维空间结构，这是因为蛋白质的三维结构具有保守性，氨基酸残基序列的较小改变不会引起构象的巨大变化。进行蛋白质同源模建时，氨基酸序列等同性应在 40%以上，否则难以构建有意义的三维结构。

蛋白质三维结构数据库最重要的是 Brookhaven 蛋白数据库(Brookhaven Protein Databank，PDB)，库中有近 60000 个蛋白质三维结构，都是由 X 射线晶体衍射得到的。每个条目都详细记载了氨基酸序列和每个原子的笛卡儿坐标。PDB 库用于分子设计的蛋白，最好是与配体结合的复合物晶体结构，因为揭示了配体在结合部位的分子取向和结合的微观结构，其参考价值要比空蛋白(apo-protein)大。PDB 库的数据也可用于确定肽类化合物的构象，因而对于肽类先导化合物的构象分析和药效团的确定具有重要意义，尤其是当肽存在于蛋白表面的环套(loop)处，可用 PDB 提供的构象加以推断。

11.8.3.2　小分子化合物库

小分子化合物库可分三类：有机小分子的三维结构的剑桥数据库(Cambridge Structure Databank，CSD)，商用化合物库和无样品的虚拟化合物库。剑桥数据库大都是用 X 射线或中子衍射方法测定的有机化合物、有机金属化合物或有机配体与金属生成的复合物结构，已有 15 万个化合物，其中绝大多数具有三维结构的原子坐标。在 CSD 中每一个条目包含有三种信息：①正文：包括化合物名称，作者，参考文献，晶胞大小和空间群等；②连接性：包括二维化学结构式和化学连接表，如元素符号，键型和表面电荷等；③三维结构：包括原子坐标、晶胞参数、空间群对称性、共价键半径以及由这些半径构成的结晶连接性等[168]。

剑桥数据库的化合物三维结构是实际测定出的，表征分子的构象。虽然是低能量构象，但未必是药效构象，因为在与受体结合时，诱导契合生成的构象能量常常高于最低能量构象。

商用化合物数据库常用于分子对接和虚拟筛选，如 MDL(Molecular Design Limited)数据库，包含有 CMC 药物数据库(8 千余个药物)和 MDDR(MDL Drug Data

Report)活性化合物库(12 万个化合物)等。库中化合物的三维结构是由二维结构经计算转换生成的。

虚拟的化合物库往往是研究者对特定类群的结构设计出的，如组合化学方法设计的集中库(focused library)和目标库(targeted library)，用于虚拟筛选。虚拟库没有实际的化合物存在。

11.8.3.3 由二维库生成三维库

大多数研制单位拥有化合物样品库(in house library)，包括样品(低温保存的固体样品和储液)，化学拓扑结构(chemical topology)、键型(bond type)和手性(chirality)等内容，由于这类库是由药物化学家和药理学家长期研究和积累的结果，库中既实际存放有化合物样品，也有生物学数据，因此对于药物分子设计的意义是很大的。

为了进行分子对接和虚拟筛选，只靠一维和二维数据库是不够的，需要转换成三维结构数据，这种转换过程应当是快捷的，在立体化学上是优势的，热力学上是稳定的构象。为了实现这种转换，通常采用的方法是按照立体化学原则和化学拓扑结构参数、键型和手性信息将化合物大致构建成三维分子模型，然后优化略去氢原子的结构(隐氢结构)，最后整理出初始构象。常用的商用程序有两种CONCORD[169]和 CORINA[170]。这种方法的局限性是一个化合物只产生一个构象体，虽然该构象体可能在立体化学上是合理和优势的，能量也较低，但未必是与受体匹配契合的构象，与药效构象的差别可能很大，因此需要对柔性构象加以处理。

11.8.4 基于受体结构的药物分子设计

11.8.4.1 原理

基于受体结构的药物分子设计(structure-based drug design，SBDD)是应用蛋白质或核酸等受体的三维结构模型，构建活性化合物的分子操作。该方法涉及并整合了多种技术，包括前期的靶标蛋白的克隆，表达，纯化，测序，然后用 X 射线晶体学或二维核磁共振或同源模建的方法确定靶标的三维结构。基于三维结构进行全新化合物的设计(*de novo* design)，或分子对接发现苗头(hit)和先导化合物等。图 11-33 是基于受体结构的分子设计流程图。

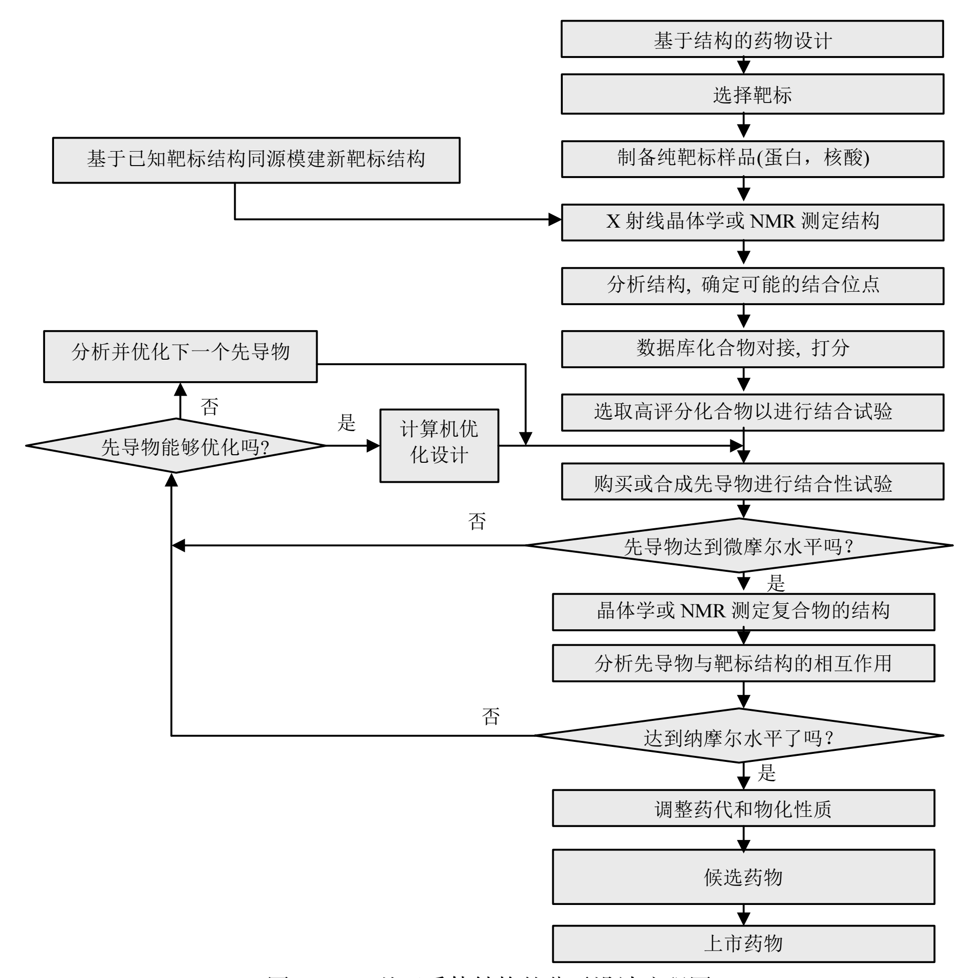


图 11-33　基于受体结构的分子设计流程图

11.8.4.2　分子对接

分子对接(docking)是分子模拟的一种方法，是将小分子化合物(配体)识别、适配和结合于生物大分子(受体)的虚拟操作，旨在发现与受体结合部位相匹配的小分子化合物，是从虚拟库中筛选苗头和先导化合物的重要方法。通过研究小分子与受体大分子的相互作用，可以确定受体的活性部位(即与配体结合的位点)，对配体分子的空间要求(形状和大小)和电性特征(正负电荷、偶极和氢键作用等)，分子对接还可以预测小分子与受体的结合模式以及亲和力(binding affinity)强度，所以分子对接是药物研究、分子设计和虚拟筛选的重要手段。

1. 分子对接的基本原理

药物或配体分子与受体的结合是个复杂过程，包括结合之前受体与配体分子的去溶剂化，双方的构象变化，以及两者之间的相互作用等。药物与受体的结合强度取决于结合的自由能变化($\Delta G_{结合}$)，结合的自由能变化与药物-受体复合物的离解常数的对数成线性关系：

$$\Delta G_{结合}=-2.303\,RT\lg K_i$$

式中：R 为气体常数，T 为热力学温度，K_i 为复合物的离解常数，在生理条件下温度 T=310 K，能量单位以 kJ/mol 表示时，上式可改写为：

$$\Delta G_{结合}=-5.85\lg K_i$$

该公式将实验测定的离解常数与受体-配体结合能关联起来，反过来说，由分子对接的能量值可预示配体的亲和力。例如$\Delta G_{结合}$=40.9kJ/mol 的 K_i 值为 0.1 μmol/L；$\Delta G_{结合}$=29.3kJ/mol 的 K_i 值为 10 μmol/L。

结合的自由能变化与系统的焓和熵变的关系为：

$$\Delta G_{结合}=\Delta H_{结合}-T\Delta S_{结合}$$

在对接过程中，通常忽略熵效应($\Delta S_{结合}$)的变化，而焓变($\Delta H_{结合}$)也只考虑配体与受体结合部位的相互作用能($\Delta E_{相互作用}$)，后者包括氢键(ΔE_{HB})，静电作用(ΔE_{elec})和范德华作用(ΔE_{vdw})。在一定意义上氢键和静电作用表征了配体分子与受体结合部位的化学(基团)的互补性，范德华作用体现了形状互补性和疏水相互作用。分子对接引起的系统能量的变化($\Delta G_{结合}$)，反映了配体分子与受体的结合强度(K_i)。

2. 受体结合部位的确定

受体蛋白的三维结构主要来源于蛋白质晶体结构数据库，也可用二维核磁共振方法确定。将受体蛋白的原子坐标再现成三维结构后，下一个重要步骤是确定受体结合部位的特征。药物与受体相互作用的分子模拟主要是根据结合部位的几何特征来进行的。为了确定结合部位的位置，最常用的程序是 DOCK 软件，方法是从配体-受体复合物的三维结构出发，此时配体(药物)在受体中的定位，是启动生物活性的基源。如果没有复合物的三维结构，而只有蛋白质的三维结构，可用 DOCK 程序预测复合物的三维坐标，这时大都考虑受体表面上存在的凹陷部分，通过知识和经验选定可能的结合区域。

3. 分子构象的确定

受体与配体的结合是在三维空间中实现的，分子对接中受体结合部位和配体分子的构象决定了分子的形状和片段、基团与原子在空间的取向以及相互位置，

由于分子构象直接影响对接结果，确定受体和配体的活性构象是对接的关键环节。柔性的受体大分子的活性构象的确定非常复杂，计算时间冗长，往往采用的构象是不变化，所以诱导契合的对接只是近似地模拟。配体分子的原子较少，需要搜寻出低能量的构象群，例如用模拟退火算法(simulated annealing algorithm)、蒙特卡罗模拟(Monte Carlo simulation)或遗传算法(genetic algorithm)等方法获得。为了考察蛋白分子的构象变化，采用分子动力学模拟与分子对接相结合，可提高对接的精确性[171]。

4. 评分与评分函数

用 DOCK 程序进行分子对接，首先进行形状匹配，通常的算法是将受体结合部位用大小不同的球形填充，形成的交迭球集勾勒出结合部位的形状和大小，犹如摄影的“负片”。每个填充球的球心设定为与配体原子的结合位点。对接中进行原子距离配体，即成对的原子和原子间的距离同球心与球心的距离近于相等，则生成一个配对。一个配体分子若满足有 4 组配对，则认为形状匹配；如果匹配的点数小于 4 个，则认为形状不相匹配。

评价对接匹配的优劣用评分函数(scoring function)检验与衡量，DOCK 程序的评分函数包括受体结合部位与配体分子的形状互补性，静电作用，氢键结合作用，范德华作用和化学得分(chemical scoring)。对接中可考虑柔性配体的构象变化，可采用分-治算法(divide-and-conquer algorithm)计算[172]。

Böhm 提出了另一种对接计算打分方法[173]，评价配体与受体之间的亲和力 $\Delta G_{结合}$，将 $\Delta G_{结合}$ 可分解成五项：

$$\Delta G_{结合}=\Delta G_0+\Delta G_{HB}f(d\alpha)+\Delta G_{lipo}\mathrm{A}+\Delta G_{ionic}f(d\alpha)+\Delta G_{rot}N_{rot}$$

式中：ΔG_0 为未发生结合作用的基态能；ΔG_{HB} 为氢键的贡献项，取决于氢键的性质，其中 $d=$ D-A 的距离，$\alpha=$ D-H-A 的角度；ΔG_{lipo} 为疏水作用项，取决于疏水接触面积的大小；ΔG_{ionic} 为静电相互作用项，与距离和方向有关；ΔG_{rot} 用以说明配体结合后自由度的限制，与自由旋转键的数目(N_{rot})呈线性关系。

为了证明上述参数的合理性，用蛋白质数据库的 45 个受体-配体复合物的离解常数 K_D 进行了验证。由于 K_D 与 $\Delta G_{结合}$ 成如下的关系：

$$\Delta G_{结合}=-2.303RT\lg K_D$$

通过回归计算，得到如下的回归方程：

$$\Delta G_{结合}=1.3(\pm1.9)-1.1(\pm1.9)\Sigma_{\text{H-bonding}}f(\Delta R,\Delta\alpha)-2.0(\pm0.5)\Sigma_{ionic}f(\Delta R,\Delta\alpha)$$
$$-0.04(\pm0.01)A_{lipo}+0.33(\pm0.14)N_{rot}\qquad n=45,\ r^2=0.76$$

式中：ΔR 为偏离正常氢键(H…O, H…N)1.9Å 的长度，$\Delta\alpha$为偏离正常氢键键角(O-H-N, N-H-O)180°的度数，A_{lipo}为配体与受体疏水接触的面积(Å^2)，N_{rot}代表开链非末端旋转性键数。式中的第一项为由于配体分子的移动和转动受限熵值变化而损失的能量(该项是难以测定的)，其余各项代表氢键、静电和疏水相互作用的自由能变化，以及由于配体结合后旋转性单键的固定而损失的熵值。该方程的预测精度大约为 2.3 kcal/mol，相当于 K_D=1.6。由分子对接操作计算得到的评分，可以预测化合物的生物活性。

5. 后处理

对接操作的后处理是按照得分的大小进行数据整理，如果评分函数可靠，而且对接操作合理，则得分最高的化合物(或化合物的某个构象)预示有较高的生物活性，有时甚至不必进一步计算验证，可指导生物学评价。但在实际操作中往往需要对得分较高的化合物(例如虚拟筛选的前 300 个化合物)，输出化合物与受体结合的图形，由药物化学家对化合物逐个考察，内容包括配体的构型、构象，配体如何对接到受体结合部位，配体与受体之间有什么样的相互作用，以及配体的化合物类型等。在化学上，还应判断分子的溶解性、化学稳定性、代谢稳定性、潜在毒性以及合成的可行性等，显然，药物化学家的知识积累、经验和直觉对这种干预是非常重要的。

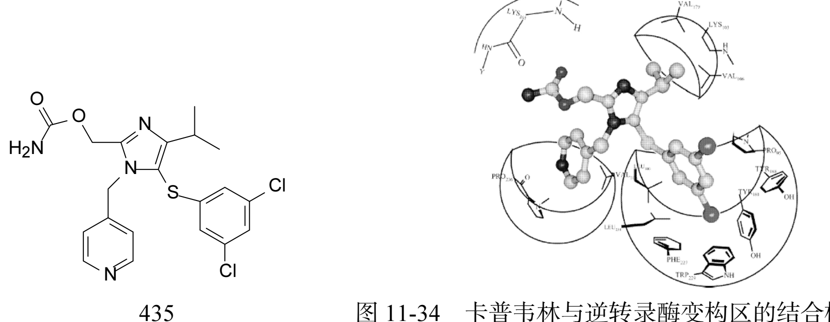
为了减低后处理的工作量，可将对接的配体分子按照化学结构分组，然后审核各组的有代表性的分子，这样在一定时间内可以评价多样性结构。

6. 分子对接举例

1) 非核苷类逆转录酶抑制剂

HIV 非核苷类逆转录酶抑制剂(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor，NNRTI)是一类抑制 HIV 病毒复制的药物，这类化合物结合于 HIV 逆转录酶变构区，多种复合物晶体结构已有报道。虽然这类抑制剂有多样的化学结构，但结合模式具有共同性，即所谓“蝴蝶”样结合模式：化合物结构的“一翼”与酶的 Leu234，Phe227，Trp229，Tyr181，Tyr188 形成的疏水腔发生π-π相互作用；另“一翼”与 Lys101 和 Lys103 发生氢键结合作用；“蝴蝶的躯干”与酶的 Lys103，Val106，和 Val179 发生疏水结合。图 11-34 是 NNRTI 卡普韦林(capravirine，266)的结合示意图。Ragno 等用 Autodock 程序研究了 27 个抑制剂与野生型逆转录酶的复合物晶体结构的复原情况，对接结果的均方根偏差(root-mean-square deviation，RMSD)为 0.22~1.24 Å，结合部位的 182 个氨基酸残基的柔性链骨架原子的 RMSD=1.13 Å，说明对接不同的抑制剂，氨基酸残基的位置没有显著性改变。进而将每一个抑制剂分别与其余 26 个逆转录酶的晶体结构进行广泛的互相对接，即所谓交叉对接(cross-docking)，以考察在低能构象下的对接质量。结果显示 27 个

抑制剂的平均 RMSD=1.58 Å，说明 Autodock 程序研究化合物同逆转录酶的分子对接与实验结果是相当吻合的，证明基于晶体结构模型进行分子对接和虚拟筛选有很强的预测性[174]。



435　　图 11-34　卡普韦林与逆转录酶变构区的结合模式

2) HIV 蛋白酶抑制剂

HIV 蛋白水解酶是 HIV 病毒复制后对原蛋白后加工，形成有功能的蛋白的重要酶系，抑制 HIV 蛋白酶可阻止病毒的成熟和感染。X 射线晶体学数据揭示了 HIV-1 蛋白酶-底物复合物的三维结构，该酶为含有 2×99 个氨基酸残基同二聚体，Asp25 和 Asp25′参与蛋白底物的肽键水解；Gly27 与 Gly27′与底物蛋白形成一对氢键；Ile50 和 Ile50′与参与水解的水分子形成另一对氢键。参与水解的水分子与其他水分子不同，作为结构水(structural water)与底物和酶形成三元复合物。肽键水解时形成的过渡态，使羰基成为偕二羟基的四面体结构，与 Asp25 和 Asp25′发生氢键结合。图 11-35 是 HIV 蛋白酶的晶体结构与药效团特征示意图。

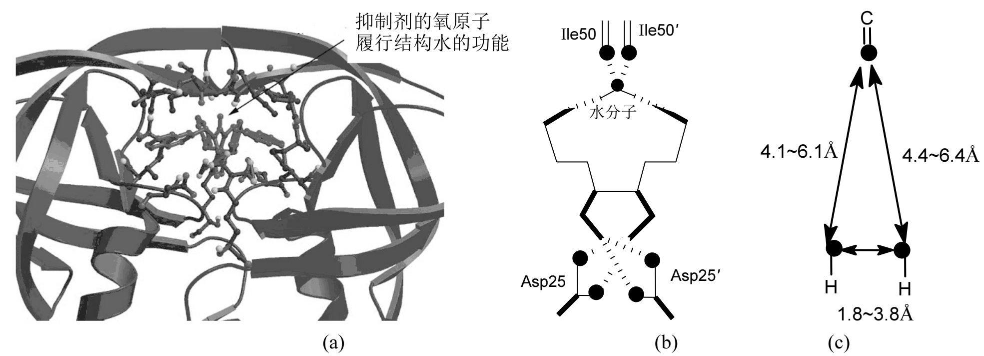


图 11-35　(a) HIV-1 蛋白酶与抑制剂的晶体结构；(b) 与底物的结合模式；(c) HIV-1 蛋白酶抑制剂的药效团模型

另一个有代表性实例是发现香豆素类先导化合物。根据这个模型对美国国家

肿瘤研究所数据库中 12 万个化合物进行了搜寻，得出 2000 个苗头分子，进一步用疏水性作为限制条件，以利于与异亮氨酸残基的疏水结合，得到 15 个化合物，既含有药效团分布特征，也满足疏水性要求。通过体外活性评价，其中 4-羟基香豆素二聚体(436)和 2-羟基醌四聚体(437)对 HIV-1 蛋白酶抑制作用很强，IC_{50} 分别为 0.32 和 0.75μmol/L[175]。

436 437

DesJalais 等为寻找 HIV-1 蛋白酶新的抑制剂，用分子对接方法在剑桥晶体库(CCD)进行搜寻，找到高评分的氟哌啶醇(haloperidol，438)及其类似物羟哌啶醇(hydroxypyridol)，它们能够很好地与酶活性中心结合。后经实验证明，这两个抗抑郁药对 HIV-1 和 HIV-2 蛋白酶有强效抑制作用[176]。

438

11.8.4.3 全新药物分子设计

上一节讨论的基于受体三维结构的分子对接和虚拟筛选，是根据靶标结合部位的三维特征，研究和搜寻那些与结合部位的形状、电性和化学上呈互补的化合物，得出的是已知的或固有的或想象出的分子，筛选过程犹如在众多的钥匙中寻找能够开启某已知构造的锁。本节讨论的全新分子设计(*de novo* design)，也是依据受体的三维结构和互补性原则，建造一个(组)与受体部位的形状、电性和化学互补的全新化合物，犹如为某一锁铸造一(数)把特定的开启钥匙。

全新分子设计的出发点是依据受体结合部位的三维结构，确定受体的活性中心的容积、形状和化学要求，也要按照药效团的要求来界定限制条件[177]。其基本原理是以配体与受体活性中心的表面及它们之间重要基团的相互作用，作为产生

配体分子的根据。配体分子在受体活性部位的定位，是某些原子或基团与受体的特定基团相结合。

配体的结合位点一旦确定后，在受体结合部位产生的原子或基团应匹配于受体的结合点，即与受体活性部位的形状和功能基配置呈互补性。由于产生的分子不是已存在化合物，也不限于配体的类似物，而是新型或新颖的结构。此外，根据设定的限制程度，可以产生数量不同的化合物(即苗头或先导结构)。这样，可能生成结构多样的新分子。

全新设计是在程序驱动下经计算化学方法而实现的操作。因为产生的结构是通过原子、基团或片段连接而成，此时结构的“生长”，可以是以原子为单位而长成新分子，例如 Itai 等用原子生长法进行全新设计二氢叶酸还原酶抑制剂[178]。不过更多用的是片段生成的方法，即根据受体部位的空间形状和化学环境，加入药物中经常出现的化学片段，例如苯环和杂环，以使化合物更具有类药性，例如 Moon 等设计了肾素抑制剂[179]。无论是原子生成法还是片段生成法，都是逐步构建的，都应力图使生成的化合物具备“类药性” (drug-like)。理想的程序和方法应当满足如下的标准：

(1) 容易使用，最好利用图形界面，产生的结构有直观性，而且界面便于用户使用。

(2) 操作快捷，最好是交互式实时操作，因而能够在短时间内探索并评价更多的设想，提高成功的机会。

(3) 生成的分子结构应在化学和生物学上是合理的，有意义的，不应有不稳定的或不存在的基团，而且也能够合成。

(4) 能够产生多样性结构，即不只生成一种结构类型，理想的结果是生成宽阔的配体空间，从而在化学上有挑选和优化的余地。

(5) 生成的先导物应对受体或酶有较高的亲和力。

(6) 对各种受体都有可操作性，程序能够处理各种形状、大小和化学性质的结合部位，可以处理金属离子、辅因子、结构水等，也可处理受体-配体间的共价键。

为便于叙述全新设计的方法，着重讨论以下三个方面：即确定相互作用位点，产生新结构，对产生的结构打分、分级和分类。实际操作中这三个步骤并非依次进行，因为结构随着生成，随着打分，并只保留高分值的结构。

1. 作用位点的确定

前已述及，受体-配体相互作用的位点是一个区域，这个区域处于受体的活性部位，结合位点是受体的氨基酸侧链和骨架上某些原子或基团与配体的原子或基团之间的相互作用，包括静电引力、氢键、共价键、金属配位键、疏水作用等，

并且形状是互补的，空间距离也是适宜的。除静电引力无方向性外，氢键、共价键和配位键都是向量，所以对于配体的定位和取向是重要的限制条件，而对疏水作用的要求比较宽容，但对于受体-配体结合的贡献也很大。

如果已知受体-配体复合物的三维结构，比较容易确定结合位点。一般是将配体从复合物中剥离出，得到的空腔是设计新分子的区域，新分子的取向和功能基特征及其分布是由原复合物结合特征所提供的，在本质上也映射了配体的药效团。

若没有复合物的三维结构，而只有靶标蛋白结构(apo-protein)，可通过分析活性部位的性质，例如用活性位点分析方法(active site analysis)获得结合位点。为此，用一些小分子作为探针，确定原子或片段的最佳几何位置。图 11-36 是在活性部位中用小分子搜索结合位点的示意图，该结合腔中分别用含羰基或羟基的小分子如甲醛和甲醇分子、含羟基或氨基的分子以及苯分子作为探针，分别寻找并结合于氢键给体区域，氢键接受体区域和疏水区域，因而确定了受体结合部位含有 3 个特征(也就是药效团特征)。

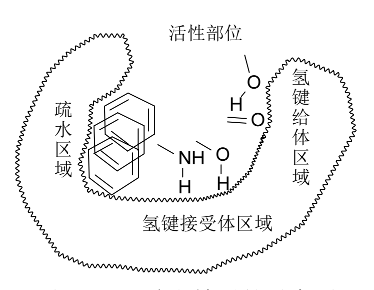


图 11-36　片段搜寻的示意图

确定受体结合部位可以用两种不同的算法，基于计算能量的方法和基于规则的方法。

基于能量计算确定相互作用位点是用分子力场分析的方法，例如采用 GRID 算法[180]，该方法是在受体的活性部位中打上三维网格，用探针原子或基团在该网格点上移行，确定出优势作用位置。另一程序 LEGEND 也属于这种方法，使用的探针有碳、氮、氧和氢原子，结合 MM2 力场和参数进行计算[181]。多拷贝同时搜寻(multiple copy simultaneous search，MCSS)方法，其原理是将功能基和疏水片段如甲醇基、乙腈基、甲基乙酰胺基、苯基和萘基等在药物分子中经常出现的基团或片段，拷贝数量为成百上千个，随机地放到活性部位中，考察它们与受体结合区域的相互作用[182]，通过 CHARMM 力场进行分子动力学模拟和能量优化，计算体系的能量，确定在活性部位中这些片段或分子的位置和取向[183]。

2. 结构的生成

当确定了作用部位后，下一步是构建配体分子。首先是产生初始结构，是从

作用部位中的一个原子或基团(作为种原子)开始，经逐步增长而建造出分子结构，在原子上连接的新原子、基团或片段是经迭代操作确定的，得到离散的基团和片段。

下一步是片段的对接和连接，将与受体活性部位匹配的分子片段连接成分子。例如，用位点连接的方法(site point connection)，常用的程序有 LUDI 软件[184,185]，PRO-LIGAND 程序[186,187]，HOOK 程序[188]，CAVEAT[189]、NEW-LEAD[190]和 SPROUT[191]软件等。

虽然有结合位点的指引，用上述的每种方法都会产生数量众多的化合物，需要对配体分子的质量作评分估价。为此，计算每个配体分子与受体相互作用能，以能量的高低作为评分标准，选取高分值的化合物。

11.8.5　基于受体结构的组合化学库设计

为了提高组合库的质量和目标物的发现概率，构建组合化学库有两个鲜明的特征：建造有机小分子库，使化合物具有类药性和多样性，因而从有机合成的角度研究反应性能强且多样的构建模块是一个重要任务；另一个特征是，将计算机辅助分子设计，特别是基于受体结构分子设计与组合化学的方法相结合，在实施化学合成之前，用计算机构建虚拟库，通过虚拟筛选，使目标库更加集中和有效，以提高先导物的命中率。

前已述及，基于受体结构的药物设计主要有两个途径：以分子对接(DOCK)为特征的数据库搜寻法和全新设计(*de novo* design)法。基于受体结构建立组合库，是根据受体结合部位的空间与理化特征，模拟出与之互补的药物(配体)的基本骨架(scaffold)，将骨架逆推导出构建单元(building block)，根据多样性和易得性的标准，选择不同的构建单元，组建成虚拟的组合库，再通过分子对接方法，对虚拟的化合物进行虚拟筛选，按照得分的高低，取舍组合库的化合物，进行(平行)合成和生物评价。

所以，基于受体结构的组合化学库的构建可认为是一个整合性的平台技术，它包括了基于结构的分子设计(SBDD)、虚拟组合库的构建(VCC)和虚拟筛选(VS)。图 11-37 是该方法的流程图[192]。

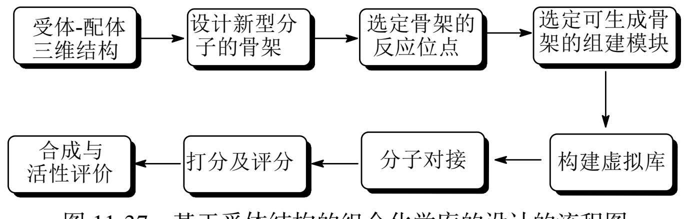


图 11-37　基于受体结构的组合化学库的设计的流程图

确定新型分子骨架可以用全新设计的方法获得，也可用分子对接方法从化合物库中筛选得到，还可模拟已知配体的结构。无论哪种来源，均需分析出骨架的反应位点，并依此确定构建模块(building block)。选取构建模块应在药物化学上是合理的，有机合成反应是可行的，即能够容易地进行所预计的反应，反应收率高，易于纯化等。根据每个化合物中构建模块的组成数和每类模块的选取的数量可计算出虚拟库的容量。例如一个目标分子由三个模块构成，每种模块各有 10 个构建单元，虚拟出的组合库含有 10×10×10=1000 个化合物。

预选的构建模块可通过程序如 PROJECT LIB 完成化合物的虚拟合成，构建成虚拟库。这样得到的虚拟库不同于商用的数据库，也不同于随机收集的化合物库，而是在一定程度上反映了受体要求的目标库。

下一步则是对虚拟库中的化合物逐个经分子对接研究，判断哪些分子值得实地合成和作活性评价。对接的评分体系用来评判库中化合物与受体作用方式之强弱与优劣。如前所述，评分分为 3 种：判断化合物及其作用方向与受体活性部位几何形状的匹配情况，得分越高，意味着匹配越好；判断化合物及其作用方向，与受体活性部位静电作用的匹配情况，得分高者，匹配良好；判断化合物及其作用方向与受体活性部位相互作用的自由能变化情况，自由能变化越大，表示结合得越好。

分子对接的结果，以化合物在各个方向上的得分和坐标参数的形式输出，还需对输出结果作加工处理，用分子模拟方法进行可视化操作，对“高分”化合物与受体的结合做精确模拟，同时根据药物化学的原理、直观与经验，确定候选化合物的合成。因为得分最高的化合物未必是最佳的配体，而最佳配体一定是“高分”化合物，分子对接的这种测不准情况，需要药物化学家的判断与干预。

参 考 文 献

[1] Wilson R M, Danishefsky S J. Small molecule natural products in the discovery of therapeutic agents: the synthetic connection. J Org Chem, 2006, 71: 8329-8351

[2] Cragg G M, Newman D J, Snader K M. Natural Products in Drug Discovery and Development. J Natl Prod, 1997, 60: 52-60

[3] Kingstom D G I, Chaudhary A G, Chordia M D, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-acyl analogs of paclitaxel (Taxol). J Med Chem, 1998, 41: 3715-3726

[4] Giannakakou P, Gussio R, Nogales E, et al. A common pharmacophore for epothilone and taxanes: Molecular basis for drug resistance conferred by tubulin mutations in human cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 2904-2909

[5] Borzilleri R M, Zheng X, Schmidt R J, et al. A novel application of a Pd(0)-catalyzed nucleophilic substitution reaction to the regio- and stereoselective synthesis of lactam analogues

of the epothilone natural products. J Am Chem Soc, 2000, 122: 8890-8897

[6] Chou T C, Zhang X G, Balog A, et al. Desoxyepothilone B: An efficacious microtubule-targeted antitumor agent with a promising in vivo profile relative to epothilone B. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 9642-9647

[7] Rivkin A, Yoshimura F, Gabarda A E, et al. Discovery of (E)-9,10-dehydroepothilones through chemical synthesis: On the emergence of 26-trifluoro-(E)-9,10-dehydro-12,13- desoxyepothilone B as a promising anticancer drug candidate. J Am Chem Soc, 2004, 126: 10913-10922

[8] Gunde-Cimerman N, Cimerman A. Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-lovastatin. Exp Mycol, 1995,19:1-6

[9] Carbonell T, Freire E. Bingding thermodynamics of statins to HMG-CoA reductase. Bioche mistry, 2005, 44: 11741-11748

[10] Denis A, Agouridas C, Auger J M, et al. Synthesis and antibacterial activity of HMR 3647 a new ketolide highly potent against erythromycin-resistant and susceptible pathogens. Bioorg Med Chem Lett, 1999, 9: 3075-3080

[11] Ma Z, Clark R F, Brazzale A, et al. Novel erythromycin derivatives with aryl groups tethered to the C-6 position are potent protein synthesis inhibitors and active against multidrug-resistant respiratory pathogens. J Med Chem, 2001, 44: 4137-4156

[12] Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H, et al. Structure of FK506: A novel immunosuppressant isolated from Streptomyces. J Am Chem Soc, 1987, 109: 5031-5033

[13] Khoury S, Sayegh M H, Turka L A. Blocking costimulatory signals to induce transplantation tolerance and prevent autoimmune disease. Int Rev Immunol, 1999, 18: 185-199

[14] Warty V, Diven W, Cadoff E, et al. FK506: A novel immunosuppressive agent. Characteristics of binding and uptake by human lymphocytes. Transplantation, 1988, 46: 453-457

[15] Kumazawa E, Hirota Y, Aonuma M, et al. A new water-soluble camptothecin derivative, DX-8951f, exhibits potent antitumor activity against human tumors in vitro and in vivo. Jpn J Cancer Res, 1995, 86: 776-782

[16] Sum P E, Lee V E, Testa R T, et al. Glycylcyclines. A new generation of potent antibacterial agents through modification of 9-aminotetracyclines. J Med Chem, 1994, 37:184-188

[17] 陈迪华, 谢晶曦. 中药青黛的化学成分. 中草药, 1984, 15: 534-536

[18] Leclerc S, Garnier M, Hoessel R, et al. Indirubins inhibit glycogen synthase kinase-3 beta and CDK5/P25, two protein kinases involved in abnormal tau phosphorylation in Alzheimer's disease - A property common to most cycline-dependent kinase inhibitors. J Biol Chem, 2001, 276: 251-260

[19] 吴克美, 张曼云, 方正等. 抗白血病药物靛玉红以及靛蓝和异靛蓝衍生物的合成. 药学学报, 1985, 20: 821-826

[20] Suffness M. Taxol: from discovery to therapeutic use. In Bristl JA ed. Ann Rep Med Chem, 1993, 28: 305-314

[21] Brun J P. Zopiclone, a cyclopyrrolone hypnotic: Review of properties. Pharmacol Biochem Behav ,1988, 29: 831-832

[22] Boyd M R, Paull K D. Some practical consideration and applications of the NCI in vitro drug

discover screen. Drug Dev Res, 1995, 34: 91-109
[23] Endo A. Compactin (ML-236B) and related compounds as potential cholecterol-lowering agents that inhibit HMG-CoA reductase. J Med Chem, 1985, 28: 401-405
[24] Lahana R. How many leads from HTS? Drug Discov Today, 1999, 4: 447-448
[25] Hawiger J, Kloczewiak M, Bednarek M A, et al. Platelet receptor recognition domains on the α chain of human fibrinogen: structure-function analysis. Biochemistry, 1989, 28: 2909-2914
[26] Sugihara H, Fukushi H, Miyawaki T, et al**.** Novel non-peptide fibrinogen receptor antagonists. Synthesis and glycoprotein IIb-IIIa antagonistic activities of 1,3,4-trisubstituted 2-oxopiperazine derivatives incorporating side-chain functions of the RGDF peptide. J Med Chem, 1998, 41: 489-502
[27] Alig L, Edenhofer A, Harvary P, et al. Low molecular weight, non-peptide fibrinogen receptor antagonists. J Med Chem, 1992, 35: 4393-4407
[28] Samanen J M, Ali F E, Barton L S, et al. Potent, selective, orally active 3-oxo-1, 4-benzodiazepine GPIIb/IIIa integrin antagonists. J Med Chem, 1996, 39: 4867-4870
[29] Rokach J Y, Girard Y, Guindon J G, et al. The synthesis of a leukotriene with SRS-like activity. Tetrahedron Lett. 1980, 21: 1485-1488
[30] Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF, et al. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. Biochemistry., 1977, 16: 5484-5491
[31] Ondetti M A, Bubin B, Cushman D W. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active hypertensive agents. Science, 1977, 196: 441-444
[32] Acharya K R, Sturrock E D, Riodan J K, et al. ACE revisited: A new target for structure-based dug design, Nature Rev Drug Discov, 2003, 2: 891-902
[33] Krapcho J, Turk C, Cushman D W, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. Mercaptan, carboxyalkyl dipeptide, and phosphinic acid inhibitors incorporating 4-substituted pralines. J Med Chem, 1988, 31: 1148-1160
[34] Nadzan A M. Retinoids for the Treatment of Oncological Diseases. Ann. Rep Med Chem, 1995, 30: 119-128
[35] Bollag W. Retinoids and cancer. Cancer Chemother Pharmacol, 1979, 3: 207-215
[36] Kawachi E, Hashimoto Y, Himi T, et al. Retinobenzoic acids. 1. Structure-activity relationships of aromatic amides with retinoidal activity. J Med Chem, 1988, 31: 2182-2192
[37] Black J. Reflections on the analytical pharmacology of histamine H2-receptor antagonists. Gastroenterology, 1993, 105:963-968
[38] Ishikawa, K. Fukami T, Nagase T, et al. Cyclic pentapeptide endothelin antagonists with high ET(A) selectivity. Potency- and solubility-enhancing modifications. J Med Chem, 1992, 35: 2139-2142
[39] Neidhart W. Functionalized pyrimidines as a novel class of orally active endothelin receptor antagonists. 24th Natl Med Chem Symp, Salt Lake City, 1994, June, 23
[40] Chan M F, Stavros F, Raju B, et al. Discovery of TBC11251, a potent, long acting, orally active endothelin receptor-A selective antagonist. J Med Chem, 1997, 40: 1690-1697

[41] Winn M, von Geldern T W, Opgenorth T J, et al. 2,4-Diarylpyrrolidine-3-carboxylic acids-potent ETA selective endothelin receptor antagonists. 1. Discovery of A-127722. J Med Chem, 1996, 39: 1039-1048

[42] Elliott J D, Lago M A, Cousins R D, et al. 1,3-Diarylindan-2-carboxylic acids, potent and selective non-peptide endothelin receptor antagonists. J Med Chem, 1994, 37: 1553-1557

[43] Nishikibe M, Ohta H, Okada M, et al. Pharmacological properties of J-104132 (L-753,037), a potent, orally active, mixed ETA/ETB endothelin receptor antagonist. J Pharmacol Exp Therap, 1999, 289: 1262-1270

[44] Riechers H, Albrecht H-P, Amberg W, et al. Discovery and optimization of a novel class of orally active nonpeptidic endothelin-A receptor antagonists. J Med Chem, 1996, 39: 2123-2128

[45] Metz G, Pindell M H, Chen H L, et al. Cloxacepride and related compounds: a new series of orally active antiallergic compounds. J Med Chem, 1983, 26: 1065-1070

[46] Einsiedel J, Weber K, Thomas C, et al. Stereocontrolled dopamine receptor binding and subtype selectivity of clebopride analogues synthesized from aspartic acid. Bioorg Med Chem Lett, 2003, 13:3293-3296

[47] King F D, Dabbs S, Bermudez J, et al. Benzotriazinones as virtual-ring mimics of o-methoxybenzamides: novel and potent 5-HT3 receptor antagonists. J Med Chem, 1990, 33: 2942-2944

[48] Bermudez J, Fake C, Joiner G F, et al. 5-Hydroxytryptamine (5-HT3) receptor antagonists. 1. Indazole and indolizine-3-carboxylic acid derivatives. J Med Chem, 1990, 33: 1924-1929

[49] Clark R D, Miller A B, Berger J, et al. 2-(Quinuclidin-3-yl)pyrido[4,3-b]indol-1-ones and isoquinolin-1-ones. Potent conformationally restricted 5-HT3 receptor antagonists. J Med Chem, 1993, 36: 2645-2657

[50] Jukic D, Rouissi N, Laprise R, et al. Neurokinin receptors antagonists: old and new. Life Sci, 1991, 49:1463-1469

[51] Hagiwara D, Miyake H, Murano K, et al. Studies on neurokinin antagonists. 3. Design and structure-activity relationships of new branched tripeptides Nα-(substituted L-aspartyl, L-ornithyl, or L-lysyl)-N-methyl-N-(phenylmethyl)-L-phenylalaninamides as substance P antagonists. J Med Chem, 1993, 36:2266-2278

[52] Horwell D C, Howson W, Higginbottom M, et al. Quantitative Structure-Activity Relationships (QSARs) of N-Terminus Fragments of NK1 Tachykinin Antagonists: A Comparison of Classical QSARs and Three-Dimensional QSARs from Similarity Matrixes. J Med Chem, 1995, 38: 4454-4462

[53] Hale J J, Mills S G, MacCoss M, et al. Structural optimization affording 2-(R)-(1-(R)-3,5-bis(trifluoromethyl)phenylethoxy)-3(S)-(4-fluoro)phenyl-4-(3-oxo-1,2,4-triazol-5-yl) methylmorpholine, a potent, orally active, long-acting morpholine acetal human Nk-1 receptor antagonist. J Med Chem, 1998, 41: 4607-4614

[54] Hoffmann T, Bös M, Stadler H, et al. Design and synthesis of a novel, achiral class of highly potent and selective, orally active neurokinin-1 receptor antagonists. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 1362-1365

[55] Dodge J A, Lugar C W, Cho S, et al. Synthesis and estrogen receptor binding affinities of the major human metabolites of raloxifene (LY139481). Bioorg Med Chem Lett, 1997, 7: 993-996
[56] Ray S, Tandon A, Dwivedy I, et al. Antifertility agents. 12. Structure-activity relationships of 3,4-diphenylchromenes and –chromans. J Med Chem, 1976, 19: 276-279
[57] Kym P R, Austead G M, Pinney K G, et al. Molecular structures, conformational analysis, and preferential modes of binding of 3-aroyl-2-arylbenzo[b]thiophene estrogen receptor ligands: LY117018 and aryl azide photoaffinity labeling analogs. J Med Chem, 1993, 36: 3910
[58] Edmonds J P, Scott D L, Furst D E, et al. Antirheumatic drugs: A proposed new classification. Arthritis Rheum, 1993, 36: 336-339
[59] Sutton B M, McGusty E, Walz D T, et al. Oral gold. Antiarthritic properties of alkylphosphinegold coordination complexes. J Med Chem, 1972, 15: 1095-1098
[60] Stanworth D R. D-penicillamine and rheumatoid factor. Ann Rheum Dis, 1992, 51:1181-1182
[61] Leenen F H H, Smith D L, Unger W P. Topical minoxidil: cardiac effecs in bald man. Brit. J Clin Pharmacol, 1988, 26: 481-485
[62] Winquist R J, Heaney L A, Wallace A A, et al. Glyburide blocks the telaxation response to BRL 34915 (Cromakalium), minoxidil sulfate and diazoxide in vascular smooth muscle. J Pharmacol Exp Ther, 1989, 248: 149-156
[63] Brueggemeier R W, Hackett J C, Diaz-Cruz E S. Aromatase Inhibitors in the Treatment of Breast Cancer. Endocr Rev, 2005, 26: 331-345
[64] Terrett N K, Bell A S, Brown D, et al. Sildenafil (Viagra(TM)), a potent and selective inhibitor of type 5 cGMP phosphodiesterase with utility for the treatment of male erectile dysfunction. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6: 1819-1824
[65] Daugan A, Grondin P, Ruault C, et al. The discovery of tadalafil: A novel and highly selective PDE5 inhibitor. 2: 2,3,6,7,12,12a-Hexahydropyrazino[1',2':1,6]pyrido[3,4-b]indole-1,4-dione analogues. J Med Chem, 2003, 46: 4533-45452
[66] Wermuth C G. The “SOSA” approach: an alternative to high-thoughput screening. Med Chem Res, 2001, 10: 431-439
[67] Underwood M. Diagnosis and management of gout. Brit Med J, 2006, 332: 1315–1319
[68] Rosenburg B, Vancamp L, Krigas T, et al. Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. Nature, 1965, 205: 698-699
[69] Cade J F J. The story of lithium// Ayd Jr FJ, Blackwell B. Discoveries in Biological Psychology. Philadelphia: Lippincott, 1970, 218
[70] 谢晶曦, 周瑾, 张纯贞等. 五味子丙素类似物合成的研究. 药学学报, 1981, 16: 306-309
[71] Janssen P A J, Van der Eycken C A M. The Chemical anatomy of potent morphine-like analgesics// Burger A. Drug affecting the central nervous system. New York: Marcel Dekker, 1968, 25-60
[72] Chang R S, Lotti V J, Monaghan R L, et al. A potent nonpeptide cholecystokinin antagonist selective for peripheral tissues isolated from Aspergillus alliaceus. Science, 1985, 230: 177-179
[73] Satoh Y, Matsuo T, Sogabe H, et al. Studies on a novel, potent and orally effective cholecystokinin A antagonist, FK-480. Synthesis and structure-activity relationships of FK-480

and related compounds. Chem Pharm Bull, 1994, 42: 2071-2083

[74] Bock M G, DiPardo R M, Evans B E, et al. Cholecystokinin antagonists. Synthesis and biological evaluation of 4-substituted 4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepines. J Med Chem, 1988, 31: 176-180

[75] Hu M K, Wu L J, Hsiao G, et al. Homodimeric tacrine congenersas acetyl cholinesterase inhibitors. J Med Chem, 2002, 45: 2277-2282

[76] Ponpipom M M, Hwang S B, Doebber T W, et al. (±)-trans-2-(3-Methoxy-5-methylsulfonyl-4-propoxyphenyl)-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)tetrahydrofuran (L-659,989), a novel, potent PAF receptor antagonist. Biochem Biophys Res Commun, 1988, 150: 1213-1220

[77] Buschauer A, Schickaneder H, Mörsdorf P, et al. Synthesis and in vitro pharmacology of arpromidine and related Phenylpyridylalkylguanidines, a potential new class of positive inotropic drugs. J Med Chem, 1989, 32: 1963-1970

[78] Ohshama E, Takemi H, harakawa H, et al. Dibenz[b,e]oxepin derivatives: Novel antiallergic agents possessing thromboxane A2 and histamine H1 dual antagonizing activity. I. J Med Chem, 1993, 36: 417-420

[79] Dowell R I, Edwards P N, Foster S J, et al. Methoxytetrahydropyrans. A new series of selective and orally potent 5-lipoxygenase inhibitors. J Med Chem, 1992, 35: 2600-2609

[80] Barbey S, Goossens L, Taverne T, et al. Synthesis and activity of a new methoxytetrahydropyran derivative as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor. Bioorg Med Chem Lett, 2002, 12: 779-782

[81] Unangust P C, Connor D T, Cetenko W A, et al. Synthesis and biological evaluation of 5-[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]-oxazoles, -thiazoles, and imidaziles: novel dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors with anti-inflammatory activity. J Med Chem, 1994, 37: 322-332

[82] Ohshama E, Sato H, Obase H, et al. Dihenzoxapin derivatives: Thromboxane A2 synthase inhibitor and thromboxane A2 receptor antagonism combined in one molecule. J Med Chem, 1993, 36: 1613-1618

[83] Cechetti V, Fravolini A, Schiafella F, et al. O-chlorobenzengsulfonamide derivatives of (aryloxy)propannolamine as β-blocking/diuretic agents. J Med Chem, 1993, 36: 157-161

[84] Nicolaus B J R. Symbiotic approach to drug design. In “Decision-making in drug research”, Gross F. Ed. Raven Press, New York, 1983, 173

[85] Kawamura N, Miki K, Kurokawa K, et al. Enhancement by tocoretinate of epidermal growth factor-induced DNA synthesis in human intestinal epithelial cells. Dig Dis Sci, 1994, 39: 2191-2196

[86] Albrecht H A, Beskid G, Christenson J G, et al. Dual-action cephalosporins incorporating a 3'-tertiary-amine-linked quinolone. J Med Chem, 1994, 37: 400-407

[87] Horron D K, Goodson T, Bollinger N G, et al. Leukotriene B_4 receptor antagonists: The LY255283 series of hydroxyacetophenone. J Med Chem, 1992, 35: 1818-1828

[88] Ashwood V A, Cassidy F, Coldwell M C, et al. Synthesis and antihypertensive activity of 4-(substituted-carbonylamino)-2H-1-benzopyrans. J Med Chem, 1990, 33: 2667-2672

[89] Rouot B, Leclerc G, Wermuth C G, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of arylguanidines, the analogs of clonidine. Eur J Med Chem, 1978, 13: 337-342
[90] Basil B, Coffee E C J, Gell D L, et al. A new class of sympathicβ-receptor blocking agents. 3,4-dihydro-3-hydroxy-1,5-benzoxazocines. J Med Chem, 1970, 13: 403-406
[91] Evans J M, Fake C S, Hamilton T C, et al. Synthesis and antihypertensive activity of substituted trans-4-amino-3,4-dihydro-2,2-dimethyl-1H-1-benzopyran-3-ols. J Med Chem, 1983, 26: 1582-1589
[92] Krogsgaard-Larson P, Hjeds H, Falsh E, et al. Recent Advances in GABA Agonists, Antagonists and Uptake inhibitors: SAR and Therapeutic Potential// Testa B. Advances in Drug Research. London: Academic Press, 1988, 381
[93] Langmuir I. Isomorphism, isosterism and convalence. J Am Chem Soc, 1919, 41: 1543-1559
[94] Grimm H G. On the systematic arrangement of chemical compounds from the perspective of research on atomic composition; and on some challenges in experimental chemistry. Naturwissenschaften, 1928, 17:557-564
[95] Erlenmeyer H, Leo M. On pseudoatoms. Helv Chim Acta, 1932, 15: 1171-1186
[96] Friedman H L. Influence of isosteric replacement upon biological activity. NASNRS,1951, 206: 295-358
[97] Orzalesi G, Mari F, Bertol E, et al. Anti-inflammatory agents: determination of ibuproxam and its metabolite humans. Correlation between bioavailability, tolerance and chemico-physical characteristics. Arzneim-Forsch, 1980, 30: 1607-1609
[98] Vergin H V, Ferber H, Brunner F, et al. Pharmacokinetics and biotransformation of oxametacin in healthy volunteers. Arzneim-Forsch, 1981, 31: 513-518
[99] Singh H, Chawla A S, Kapoor V K, et al. Medicinal Chemistry of Tetrazole// Ellis G P, West G B. Progress in Medicinal Chemistry. Amsterdam: Elsevier, 1980, 151
[100] Drysdale M J, Pritchard M C, Horwell Jr D C. Rationally designed "dipeptoid" analogues of CCK. Acid mimics of the potent and selective non-peptide CCK-B. J Med Chem, 1992, 35: 2573-81
[101] Ganellin C R. Discovery of Cimetidine, Renitidine and other H2-receptor histamine antagonists// Ganellin C R, Roberts SM. Medicinal chemistry: The role of organic chemistry in drug research. London: Academic press, 1993, 227
[102] Topliss J G. Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design. J Med Chem, 1972, 15: 1006-1011
[103] Buckler R T, Hayao S, Lorenzetri O J, et al. Synthesis and antiinflammatory activity of some aryltetrazolylalkanoic acids. J Med Chem, 1970, 13: 725-729
[104] Kakeya N, Yala N, Kamada A, et al. Structure–activity relation of sulfonamide carbonic anhydrase inhibitors. 4. Chem Pharm Bull, 1970, 18: 191-194
[105] Fieser L, Richardson A P. Naphthoquinone antimalarials II. Correlation of structure and activity against P. Iophurae in ducks. J Am Chem Soc, 1948, 70: 3156-3165
[106] Bustard T M. Optimization of alkyl modifications by Fibonacci search. J Med Chem, 1974, 17: 777-778

[107] Hansch C, Clayton J M. Lipophilic character and biological activity of drugs. II. The parabolic case. J Pharm Sci, 1973, 62: 1-21
[108] Seydel J K, Schaper K J, Wempe E, et al. Mode of action and quantitative structure-activity correlations of tuberculostatic drugs of the isonicotinic acid hydrazide type. J Med Chem, 1976, 19: 483-492
[109] Darvas F J. Application of the sequential simplex method in designing drug analogs. J Med Chem, 1974, 17: 799-804
[110] Hansch C, Fujita T. p-σ-π Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. J Am Chem Soc, 1964, 86: 1616-1626
[111] Hansch C, Muir M, Fujita T, et al. The correlation of biological activity of plant growth regulators and chloromycetin derivatives with hammett constants and partition coefficients. J Am Chem Soc, 1963, 85: 2817-2824
[112] Austel V, Kutter E, Kalbfleisch W. A new easily accessible steric parameter for structure-activity relationships. Arzneim-Forsch, 1979, 29: 585-587
[113] Kutter E, Austel V. Application of the theory of sets to drug design. Arzneim Forsch/Drug Res, 1981, 31:135-141
[114] Alberts A. Chemical aspects of selective toxicity. Nature, 1958, 182: 421-423
[115] Harper N J. Drug latentiation. J Med Pharm Chem, 1959, 1: 467-500
[116] Naka T, Kubo Y, Nishikawa K. A new class of diacidic nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: candesartan cilexetil. Drug Design Discovery. 1999, 16: 95-108
[117] Weller T, Alig L, Beresin M, et al. Orally Active Fibrinogen Receptor Antagonists. 2. Amidoximes as Prodrugs of Amidines J Med Chem, 1996, 39:3139-3147
[118] Cullen J M, Li D H, Brown C, et al. Antiviral efficacy and pharmacokinetics of oral adefovir dipivoxil in chronically woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45: 2740-2745
[119] Balant-Gorgia A E, Balant L P, Andreoli A. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of psychosis. Clin. Pharmacokinet, 1993, 25: 217-236
[120] Haussain M A, Aungst B J, Koval C A, et al. Improved buccal delivery of opioid analgesics and antagonists with bitterless prodrugs. Pharm Res, 1988, 5: 615-618
[121] Hall I H, Lee K H, Starenes C O, et al. Anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones and related compounds. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006, 68: 537-542
[122] Magnan S D, Shirota F N, Nagasawa H T. Drug latentiation by gamma-glutamyl transpeptidase, J Med Chem, 1982, 25: 1018-1021
[123] Walker S B, Kradjan W A, Bierman C W. Bitolterol mesylate: a beta-adrenergic agent. Chemistry, pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse effects and clinical efficacy in asthma. Pharmacotherapy, 1985, 5: 127-137
[124] Shyam K, Penketh P G, Shapiro M, et al. Hypoxia-selective nitrobenzyloxycarbonyl derivatives of 1,2-bis(methylsulfonyl)-1-(2-chloroethyl)hydrazines. J Med Chem, 1999, 42: 941-946
[125] Bodor N, Buchwald P. Recent advances in the brain targeting of neuropharmaceuticals by chemical delivery systems. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 36: 229-254

[126] Johnson C D, Lane S, Edwards P N, et al. Prodrugs based on masked lactones. Cyclization of gamma-hydroxy amides. J Org Chem, 1988, 53: 5130-5139
[127] Vigroux A, Bergon M, Zedde C. Cyclization-activated prodrugs: N-(Substituted 2-hydroxyphenyl and 2-hydroxypropyl)carbamates based on ring-opened derivatives of active benzoxazolones and oxazolidinones as mutual prodrugs of acetaminophen. J Med Chem, 1995, 38: 3983-3994
[128] Amsberry K L, Borchardt R T. The lactonization of 2'-hydroxyhydrocinnamic acid amides: a potential prodrug for amines .J Org Chem, 1990, 55: 5867-5877
[129] Dillon M P, Cai H, Magg H. Application of the “trimethyl lock” to ganciclovir, a pro-prodrug with increased oral bioavailability. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6: 1653-1656
[130] Nicolauo M G, Yuan C S, Borchardt R T. Phosphate prodrugs for amines utilizing a fast intramolecular hydroxy amide lactonization. J Org Chem, 1996, 61: 8636-8641
[131] Wang B, Gangwar S, Panletti G M, et al. Synthesis of a novel esterase-sensitive cyclic prodrug system for peptides that utilizes a “trimethyl lock”-facilitated lactonization reaction. J Org Chem, 1997, 62: 1363-1367
[132] Wang B, Zhang H, Wang W. Chemical feasibility Studies of a potential coumarin-based prodrug system. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6: 945-950
[133] Wang B, Wang W, Zhang H, et al. Synthesis and bioreversibility studies of an esterase-sensitive cyclic prodrug of DADLE, an opioid peptide. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6: 2823-2826
[134] Wang W, Camenisch G, Sane D C, et al. A coumarin-based prodrug strategy to improve the oral absorption of RGD peptidomimetics. J Controlled Release, 2000, 65: 245-251
[135] Fleischer D, Bong,R, Stewart B H. Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs. Adv Drug Del Rev, 1996, 19: 115-130
[136] Lambert D M. Rationale and applications of lipids as prodrug carriers. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2000, 11 Suppl. 2: 15-27
[137] Safavy A, Raisch K P, Khazaeli M B, et al. Paclitaxel derivatives for targeted therapy of cancer:toward the development of smart taxanes. J Med Chem, 1999, 42: 4919-4924
[138] de Groot F M H, de Bart A C W, Verheijen J H, et al. Synthesis and biological evaluation of novel prodrugs of anthracyclines for selective activation by the tumor-associated protease plasmin. J Med Chem, 1999, 42: 5277-5283
[139] Petrak K. Pharmaceutical applications of functionalized polymers. Reactive Polymers, 1989, 10: 231-237
[140] Ringsdorf H. Structure and properties of pharmacologically active polymers. J Polym Sci, 1975, 51: 135-153
[141] Duncan R. Drug-polymer conjugates: potential for improved chemotherapy. Anticancer Drugs, 1992, 3: 175-210
[142] Matsumono S, Yamamoto A, Takakura T, et al. Cellular interaction and in Vitro antitumor activity of mitomycin C-dextran conjugate .Cancer Res. 1986, 46: 4463-4468
[143] Monsigny M, Roche A C, Midoux P, et al . Glycoconjugates as carriers for specific delivery of therapeutic drugs and genes. Adv Drug Del Rev, 1994, 14: 1-24

[144] Krenitsky T A, Hall W W, de Miranda P, et al. 6-Deoxyacyclovir: a xanthine oxidase-activated prodrug of acyclovir. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 31: 3209-3213
[145] Silverman R B. The organic chemistry of drug design and drug action. Academic Press, San Diego, 1992, 380
[146] Baldessarini R J, Neumeyer J L, Campbell A, et al. An orally effective, long-acting dopaminergic prodrug: (-)-10,11-methylenedioxy-N-propylnoraporphine. Europ J pharmacol, 1982, 77: 87-88
[147] Kennedy K A, Teicher B A, Rockwell S, et al. The hypoxic tumor cell: a target for selective cancer chemotherapy. Biochem Pharmacol, 1980, 29: 1-8
[148] Kwon C H, Blanco D R, Baturay N. p-(Methylsulfinyl)phenyl nitrogen mustard as a novel bioreductive prodrug selective against hypoxic tumors. J Med Chem, 1992, 35: 2137-2139
[149] Duggan D E, Hooke K F, Noll R M, et al. Comparative disposition of sulindac and metabolites in five species. Biochem Pharmacol, 1978, 27: 2311-2320
[150] Lindberg P, Nordberg P, Alminger T, et al. The mechanism of action of the gastric acid secretion inhibitor omeprazole. J Med Chem, 1986, 29: 327-329
[151] Lin A J, Lillis B J, Sartorelli A C. Potential bioreductive alkylating agents. Antineoplastic activity of quinoline-5,8-diones, naphthazarins, and naphthoquinones. J Med Chem, 1975, 18: 917-921
[152] Kohler C, Tolman E, Wooding W, et al. A review of the effects of fenbufen and a metabolite, biphenylacetic acid, on platelet biochemistry and function. Arzneimittel Forsch, 1980; 30: 702-707
[153] Lahti R A, Gall M. Conversion of N-alkylaminobenzophenones to benzodiazepines in vivo. J Med Chem, 1976, 19:1064-1067
[154] Bundgaard H, Falch E, Larsen C, et al. Pilocarpine prodrugs. II. Synthesis, stability, bioconversion, and physicochemical properties of sequentially labile pilocarpine acid diesters. J Pharm Sci, 1986, 75: 775-783
[155] Bodor N, Buchwald P. Drug targeting by retrometabolic design: soft drugs and chemical delivery systems. Journal of Receptors and Signal Transduction, 2001, 21: 287-310
[156] Bodor N, Woods R, Raper C, et al. Soft drugs. 3. A new class of anticholinergic agents. J Med Chem, 1980, 23: 474-480
[157] Frei III E, Teicher B A, Holden S A, et al. Preclinical studies and clinical correlation of the effect of alkylating dose. Cancer Res, 1988, 48: 6417-6423
[158] Springer C J, Antoniw P, Bagshawe K D, et al. Novel prodrugs which are activated to cytotoxic alkylating agents by carboxypeptidase G2. J Med Chem, 1990, 33: 677-681
[159] Blakey D C, Davies D H, Dowell R I, et al. Anti-tumour effects of an antibody-carboxypepti dase G2 conjugate in combination with phenol mustard prodrugs. Br J Cancer, 1995, 72: 1083-1088
[160] Wallace P M, Senter P D. In vitro and in vivo activities of monoclonal antibody-alkaline phosphatase conjugates in combination with phenol mustard phosphate. Bioconj Chem, 1991, 2: 349-352
[161] Haenseler E, Esswein A, Vitols K S, et al. Activation of methotrexate-α-alanine by carbo-

xypeptidase A-monoclonal antibody conjugate. Biochem, 1992, 31: 891-897
[162] Wang SM, Chern J W, Yeh M Y, et al. Specific activation of glucuronide prodrugs by antibody-targeted enzyme conjugates for cancer therapy. Cancer Res, 1992, 52: 4484-4491
[163] Haisma H J, Boven E, van Muijen M, et al. A monoclonal antibody-beta-glucuronidase conjugate as activator of the prodrug epirubicin-glucuronide for specific treatment of cancer. Br J Cancer, 1992, 66: 474-478
[164] Atwell G J, Wilson W R, Denny W A. Synthesis and cytotoxicity of amino analogues of the potent DNA alkylating agent seco-CBI-TMI. Bioorg Med Chem Lett, 1997, 7: 1493-1496
[165] Kerr D E, Senter P D, Burnett W V, et al. Antibody-penicillin-V-amidase conjugates kill antigen-positive tumor cells when combined with doxorubicin phenoxyacetamide. Cancer Immuno. Immunother, 1990, 31: 202-206
[166] Meyer D L, Jungheim L N, Mikolajczyk S D, et al. Preparation and characterization of a beta-lactamase-Fab' conjugate for the site-specific activation of oncolytic agents. Bioconjugate Chem, 1992, 3: 42-48
[167] Overington J P, Al-Lazikani B, Hopkins A L. How many drug targets are there? Nat Ren Drug Discov, 2006, 5: 993-996
[168] Allen F H, Davies J E, Galloy J J, et al. The development of versions 3 and 4 of the Cambridge Structural Database System. J Chem Inf.Comp Sci, 1991,31: 187-204
[169] Rusinko A III, Sheridan R P, Nilakantan R, et al. Using CONCORD to construct a large database of Three-dimensional coordinates from connection tables. J Chem Inf Comput Sci, 1989, 29, 251-255
[170] Gasteiger J, Rudolph C, Sadowski J. Automatic generation of 3D-atomic coordinates for organic molecules. Tetrahedron Computer Methodology, 1990, 3: 537-547
[171] Alonso H, Bliznyuk A A, Gready J E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. Med Res Rev, 2006, 26: 531-568
[172] Lamb ML, Burdick KW, Toba S, et al. Design, docking, and evaluation of multiple libraries against multiple targets. Proteins, 2001, 42: 296-318
[173] Bohm H J. Ludi-rule-based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads. J Comp Aided Mol Design, 1992, 6: 593-606
[174] Ragno R, Frasca S, Manetti F, et al. HIV-Reverse transcriptase inhibition: Inclusion of ligand-induced fit by cross-docking studies. J Med Chem, 2005, 48 : 200-212
[175] DesJalais R L, Seibel G L, Kuntz I D, et al. Structure-based design of nonpeptide inhibitors specific for the human immunodeficiency virus 1 protease. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 6644-6648
[176] DesJalais R L, Seibel G L, Kuntz I D, et al. Structure-based design of nonpeptide inhibitors specific for the human immunodeficiency virus 1 protease. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 6644-6648
[177] Kier L B. The prediction of molecular conformation as a biologically significant property. Pure Appl Chem, 1973, 35: 509-520
[178] Itai A, Nishibata Y. Automatic creation of drug candidate structures based receptor structure,

starting point for artificial lead generation. Tetrahedron, 1991, 47: 8985-8990
[179] Moon J B, Howe W J. Computer design of bioactive moleciles: A method for receptor-based de novo ligand design. Protein: Struct Funct Genet, 1991, 11:314-328
[180] Goodford P J. A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biological important macromolecules. J Med Chem, 1985, 28: 849-857
[181] Nishibata Y, Itai A. Conformation of usefulness of a structure construction program based on three-dimensional receptor structure for rational lead generation. J Med Chem, 1993, 36: 2921-2928
[182] Caflisch A, Miranker A, Karplus M. Multiple copy simultaneous search and construction of ligands in binding sites: application to inhibitors of HIV-1 aspartic proteinase. J Med Chem, 1993, 36: 2142-2167
[183] Miranker M, Karplus M. Functionality maps of binding sites: a multiple copy simultaneous search method. Protein, 1991, 11: 29-34
[184] Bohm H J. LUDI: rule based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads. J Compu.-Aided Mol Des, 1992, 6: 593-606
[185] Chau P L, Dean P M. Automated site-directed drug design: searches of the Cambridge Structural Database for bond lengths in molecular fragments to be used for automated structure assembly. J Comput-Aided Mol Des, 1992, 6: 397-406
[186] Clark D E, Frenkel D, Levy S A, et al. PRO-LIGAND: An approach to de novo molecular design. 1. Application to the design of organic molecules. J Comput Aided Mol Design, 1995, 9: 13-32
[187] Waszkowcycz B, Clark D E, Frenkel D, et al. PRO LIGAND: An approach to de novo molecular design. 2. Design of novel molecules from molecularfield analysis (MFA) Models and pharmacophores. J Med Chem, 1994, 37: 3994-4002
[188] Eisen M B, Wiley D C, Karplus M, et al. HOOK: A program for finding novel molecular architectures that satisfy the chemical and steric requirements of a macromolecule binding site. Proteins Struct Funct Genet, 1994, 19: 199-221
[189] Laudi G, Bartlett P A. A program to facilitate the design of organic molecules. J Comput Aided Mol Design, 1994, 8: 51-66
[190] Tschinke V, Cohen N C. The NEW-LAND program: a new method for the design of candidate structures from pharmacophoric hypotheses. J Med Chem, 1993, 36: 3863-3870
[191] Gillet V J, Newell W, Mata P, et al. SPROUT: recent developments in the de novo design of molecules. J Chem Inf Sci, 1994, 34: 207-217
[192] Caflich A, Ehrardt C. Structure-based combinatorial ligand design// Veerapandian P. Structure-based Drug Design. New York: Marcel Dekker, 1997, 541-558

第 12 章　药物分子设计的策略

12.1　新药创制的过程和知识价值链

12.1.1　药物的属性

药物应具有安全、有效、稳定和质量可控等性质，四种属性是不可分割的。

药物的安全性是指在用药的剂量下，药物不呈现或只有轻微的可接受的不良反应，是用药的前提。要求药物在发挥药效时，有最低程度的不良反应，即尽可能宽的安全范围。药物的安全性也是相对的，对于治疗不同疾病的药物安全性有不同的要求，例如，避孕药的安全性要求很高，而肿瘤治疗药物，可以容许一定限度的不良反应。

药物的有效性是指药物的治疗效果，即药物发挥的效力，是用药目的所在。药物的有效性体现在安全剂量下，在相当的时程内，分布到靶组织处的药物有足够的浓度，发挥药理作用。所以，药物的有效性体现了药物的药代动力学行为和药效学性质。

药物的稳定性包括物理和化学稳定性以及代谢稳定性。物理化学性质的稳定性是指原料药和制剂在一定的时间和条件下，保持物理形态和化学结构的稳定不变，以保障药物的疗效；代谢稳定性表示药物在体内的结构不变性，较少或不被机体代谢转化，并以原型分子发挥药效。稳定性是药物安全性和有效性的保证。

药物的质量可控性系指通过物理、化学或生物学方法确保药品的质量和有效成分的含量，也是药物安全有效性的保证。

优良的药物应有特异的药理学效应，合理的药代动力学行为，可以接受的不良反应，稳定的化学和代谢性质，以及良好的物理化学性质。决定上述属性的物质基础是药物的化学结构，药物的分子结构“凝集”了上述诸多的性质，化学结构决定了药效、药代、毒理和物化性质。

12.1.2　新药创制过程的价值链

知识经济时代是借助知识创造价值，1985 年波特提出价值链(value chain)概念，旨在协助企业找出知识管理的价值贡献度，以提高企业的竞争能力。这一概念已经扩展到价值创造的全过程中，评价在研究、开发、生产、销售等各个环节

的价值模式。价值链是在物质乃至精神产品的生产中，各个价值创造节点、工序、流程间相互传递和相互影响的逻辑组合形式，本质上是一种系统运筹的认知和评估的方法。

应用价值链的概念分析新药的创制，有助于提高决策能力和效率。新药从启动研究到上市销售，包含了许多环节和工序，每个环节体现了价值的创造和增值。构成制药工业的价值链，可概括为四个环节，如图 12-1 所示。

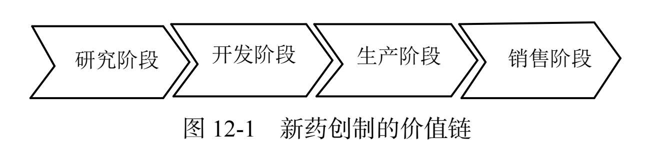


图 12-1　新药创制的价值链

本节只考察研究和开发的价值过程，本质上讲，新药的研发是将非药的活性化合物向成药的转化，以臻于安全、有效、稳定和质量可控的要求。这个转化过程由许多环节组成，包括生物学方面的评价；在化学上是发现苗头化合物(hit)和(或)先导化合物(lead)，通过优化结构，确定一批有成药前景的物质，即候选药物(drug candidate)；然后按照药政法规对候选药物进行系统的临床前研究，经审批后进入临床 I 期、II 期和 III 期研究，最终经批准上市应用。这是一条研究开发链，其中的确定候选药物是个重要环节，将研发链分为研究阶段(R)和开发阶段(D)。图 12-2 是新药研发过程的示意图。

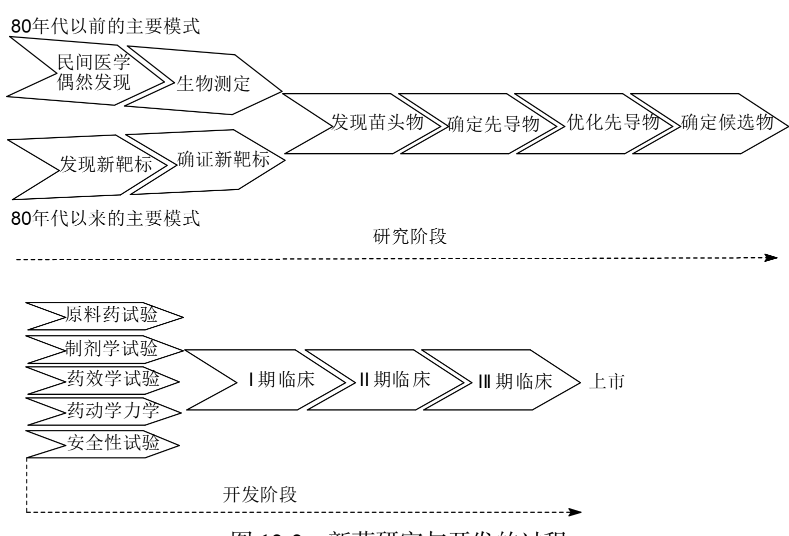


图 12-2　新药研究与开发的过程

上述诸环节构成了串行的知识价值链(临床前为并行试验)，从技术和投入的层面上考察，每个环节是对前面环节的价值增量，后面的环节包含了前面各阶段

的研发投入，所以越到后期价值含量越高。在新药研发链上，各个环节的价值贡献度和占用时间是不同的，其中先导物的发现和优化以确定候选药物，大约占总价值链的 10%，时程约 5 年。确定候选物对后面的环节有决定性影响，因为其化学结构一旦确定，决定了后面开发的命运，化学结构决定了药学、药效、药代和安全的性质以及临床效果。前面的 10%的贡献度决定了后面 90%的命运，所以优化先导物并确定候选药物对于新药创制的成败至关重要。图 12-3 是新药研究与开发各重要阶段的价值贡献示意图。

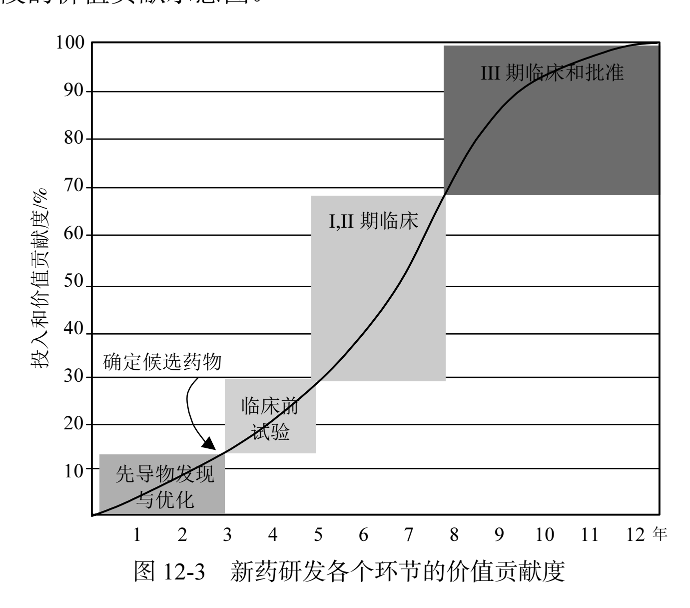


图 12-3　新药研发各个环节的价值贡献度

候选药物的确定是新药研发成败的关键，而候选药物的质量又取决于先导物的优劣和优化准则，所以，发现和确定高质量先导物又是重要的起点。

12.1.3　苗头化合物的发现和向先导物的过渡

创制新药的物质准备，始自于发现苗头化合物(hit)，苗头化合物是指对特定靶标或作用环节具有初步活性的化合物。发现苗头物可有多种途径，其中主要是用随机筛选的方法(天然产物和随机筛选化合物库)和理性的方法进行基于受体或配体结构和作用机制的分子设计。

苗头化合物未必都能进入研究阶段，会因为难以克服的缺陷不能发展成先导物，例如活性表现为非特异作用、药代动力学不合理、物化性质差、毒副作用过大、作用机制不明以及没有获得专利的可能性等。活性强度并不是苗头化合物的唯一指标。由苗头演化成先导物(hit-to-lead)是必须经过的阶段，以便达到先导物的标准和提高优化的质量。

先导化合物的质量直接影响研发的速度和成败，这可由上市的新药与其先导物有很高的结构相似性加以佐证。例如 Proudfoot 分析比较了 29 个上市新药和它们的先导物结构，发现多数具有结构相似性，而且分子质量和 log P 变化不大[1]。所以，由苗头向先导物的过渡，是趋于成药的过程。

12.1.4　先导化合物的标准

先导化合物无统一标准，各个制药公司有内部标准，而且不同的药物类别标准也不同。但从优化过程推断，先导物应有类药特征(drug-like)，反映在药效学、药代动力学和物理化学性质上有一定的标准。

在药效学上，先导物具有活性是研发的前提。先导物的活性强度一般在 1μmol/L(酶)~0.1μmol/L(受体)范围；应在细胞水平上呈现活性，因为酶(或受体)和细胞试验的区别，还在于后者涉及过膜、多靶标和特异性作用；先导物应有明确的作用机制；应存在剂量(浓度)和活性的相关性；有明确的构效关系(SAR)，以表明药理活性是特异性作用。

在药代动力学性质上，应达到吸收、分布、代谢和排泄(ADME)的基本要求，例如对大鼠灌胃生物利用度(F)大于 10%，以确保起码的口服吸收性；消除半衰期($t_{1/2}$)大于 30 min；大鼠肝细胞的清除率低于 14 μL/(min·10^6 细胞)，对人肝微粒体的清除率低于 23 μL/(min·mg)，以显示与细胞色素 P450 有较弱的作用(不是底物、抑制剂或诱导剂)，保障先导物有起码的代谢稳定性；分布容积 V_d 大于 0.5 L/kg；与血浆蛋白的结合率低于 99.5%，以避免发生药物-药物相互作用[2]。

在物理化学性质上，先导物的相对分子质量宜低于 350，以便在优化过程中有余地添加原子或基团；水溶解性应大于 10μg/mL；脂水分配系数 $c$log P 或分布系数 log D 0~3.0，确保被优化的分子的溶解性和分配性的低限[3]。

在化学结构上，先导化合物一般含脂肪或芳香环数不超过 3 个，柔性键 2~15 个，氢键给体不超过 2 个，氢键接受体不多于 8 个。偏离这些结构因素不能保障上述的药效、药代和物化性质。

此外，先导化合物的结构及其类型还应有新颖性，能够获得专利以保障研发药物的知识产权。

笔者根据阿司利康公司报道了该公司选择苗头并演化成先导物的标准，以及对物化性质和化学结构的要求，总结列于表 12-1。

表 12-1　苗头或先导物的标准

类别	内容	参数
药效学	强度	0.1~1 μmol/L
	选择性(其他相关靶标)	> 10 μg/mL
	体内活性和量效关系	明确
	与类似物的构效关系	明确
药代动力学	生物利用度 F/%	> 10
	消除半衰期($t_{1/2}$)	> 30 min
	分布容积(V_d)	> 0.5 L/kg
	血浆蛋白结合率/%	< 99.5
	大鼠静脉注射清除率	< 35μL/(min·mg)
代谢作用	大鼠肝细胞的清除率	< 14 μL/(min·10^6 细胞)
	人鼠微粒体的清除率	<23 μL/(min·mg)
	对 5 种常见 P450 抑制作用 IC_{50}	> 10 μmol/L
安全性	细胞毒作用	无(细胞毒类抗癌化合物除外)
	体内初步毒性试验	明显大于治疗剂量
	hERG 试验	阴性
	致突致畸试验	阴性
物化性质	溶解度	> 10 μg/mL
	$c\log P$	< 3
	$\log D$	< 3
化学结构	相对分子质量	< 450
	芳香环	⩽ 3
	柔性键	2~15
	氢键给体	⩽ 2
	氢键接受体	⩽ 8

12.1.5　先导化合物的优化

12.1.5.1　优化的目的

先导物的优化是将化合物转化成药物、非药演化成候选药物的过程，通过结构变换使安全性、药效学、药动学、稳定性和药学性质达到最佳化，并和谐地融合于分子中，所以，优化是在多维空间中通往候选药物的分子操作。

在新药的研发链中越到后期的环节投入的越多，价值含量越大，若最后未能

成功，则前功尽弃。所以，无成药前景的化合物要尽早摒弃，为此，需要用体外或动物体内的试验模型预测并模拟对人体的作用，将试验结果实时地反馈于新一轮的设计与合成中，直至化合物的诸多性质达到最佳的匹配。

12.1.5.2　优化的内容

先导物的优化包括以下内容：

提高化合物对靶标分子的作用强度和选择性。要试验对同源靶蛋白或蛋白亚型是否有作用，由于同源蛋白之间的结构与功能有相似性，往往因选择性不强，导致产生不良反应；

用细胞或功能性试验评价活性强度。亲和力试验不能代表生物功能，对于高亲和力的化合物应进一步在靶标高表达的细胞系上试验，评价活性和功能；

提高化合物的代谢稳定性。用克隆的人细胞色素 P450，试验是否是重要 CYP 亚型的底物、诱导剂或抑制剂。用肝微粒体和肝细胞温孵试验评价代谢类型及速率；

整体动物的初步药代动力学试验。对于有可能成为候选药物的分子进行初步药代动力学试验，用啮齿动物或犬评价口服生物利用度，化合物在血浆中浓度和时间的关系(C_{max}，T_{max}，AUC 等)，消除半衰期和清除率等；

改善溶解性和化学稳定性，调整分子的亲水-亲脂性。消除化学不稳定的结构因素；

提高安全性。在高于药理有效浓度(或剂量)下试验化合物的不良反应或毒性，确保候选药物的安全性。进行细胞毒试验和对心肌 *h*ERG 钾通道抑制试验。

12.1.6　候选药物的确定与开发

确定候选药物标志着分子设计-化学合成-生物评价的循环反馈的完成，达到了新药开发的标准。因而按照药政部门的规定，进行临床前和临床试验。为了降低失败的风险率，缩短开发时间，候选药物的选定宜遵循以下一般原则：

(1) 药效学(强度和选择性)原则上强于或不弱于临床应用的同类药物；

(2) 对大鼠、犬或灵长类动物有适宜药代动力学，例如口服生物利用度，合理的分布(例如作用于外周的药物较少进入中枢系统，反之亦然)，适宜的半衰期，较低的血浆蛋白结合率，与细胞色素 P450 无相互作用(不是 CYP 的底物、抑制剂或诱导剂等)；

(3) 良好的物理化学性质，例如水溶性、离解性、分配性、化学稳定性和多晶性等，这些是影响药代动力学、生物药剂学与制剂质量的因素。

(4) 安全性预试验，如致突变和致畸试验，围产期毒性试验、对心肌 *h*ERG

钾通道的抑制试验、用大鼠和(或)犬作一段时间(如一个月)的多剂量的耐受性和蓄积性试验观察。这些试验中任何一项出现问题，应终止开发。

(5) 选择多个候选药物，避免单打一。候选药物的开发有很强的时效性，为防止首选开发的化合物夭折而贻误时间，往往同时有后续跟进的药物(back-up candidate)。后续药物一般与首选物的结构类似，作用机制相同。后续药物的跟随开发到什么程度，取决于首选候选药物的命运。

12.2 药物分子：宏观性质与微观结构的统一

12.2.1 药物作用是由分子的宏观性质与微观结构所决定

前已述及，成功的药物兼有四种属性：安全性，有效性，稳定性(化学和代谢的稳定性)和可控性。这些属性是由药物化学结构所决定，寓于分子的结构之中。

药物作为外源性物质，被机体视作异物，机体为了保护自身免受侵害，要进行物理的和化学的处置，以尽快排出体外。在长期进化中，面对结构多样性的外来物质，机体形成了具有共性的处置方式，遵循一般的原则。这种共性行为，是长期进化的结果。表现在吸收、分布、体内的生物转化、排泄途径、与血浆蛋白的结合、组织储集等。研究这些过程与时间的关系，就是药代动力学。机体对药物的处置，通常从整体的结构及其性质出发，从宏观性质上作时间与空间、物理与化学的处置，一般而言，不拘泥分子的细微结构。

药物对机体的作用，表现为药效与毒性，本质上是与体内的生物靶标相互作用，发生物理或化学的变化，直接导致生理功能的改变，或通过级联反应、信号转导或网络调控而间接产生生理效应。若产生所希望的生理效应，就是药效学；不希望的作用为不良反应或毒副作用。无论是有益的药效或不良的反应，都是药物的特异性表现，是药物分子的个性行为。

这种个性行为，是药物(小)分子与生物大分子的物理和化学的结合过程和结果，从原子和基团水平上考察，是在大分子的结合部位(或称活性部位)的某些原子、基团或片段与药物分子中的某些原子或基团在空间的结合，而并非全部原子参与同受体的结合，结合的本质包括静电引力、氢键、疏水作用以及范德华作用等弱结合作用，也可以形成共价键结合。所以，药物分子的微观结构，决定了药效和毒副作用，这与上述的药代性质受制于分子的整体宏观性质是不同的。

基于上述理念，药物分子可视作宏观性质与微观结构的集合，建立这样的认识有助于把握药物的结构与功效之间的关系，以便从分子结构的层面上，深化对药物作用的认识；更重要的是，药物分子的宏观与微观的概念，帮助我们分辨哪

些是呈现药效所必需的因素，哪些是决定并调整药物的物理化学和药代性质的因素，指导新药的分子设计。

宏观性质与微观结构，是人为分开的两个“部分”，两者不可分割。因为分子的宏观性质，包含了微观结构中原子和基团的贡献；在改变分子的结构以调整宏观性质时，往往影响微观结构的空间相互关系。分子设计的技巧在于整合这两个侧面成最佳配置。例如降低胆固醇的 HMG-CoA 还原酶抑制剂“他汀”类药物，如洛伐他汀(lovastatin，1)和阿托伐他汀(atorvastatin，2)对微观结构的要求是 1*S*, 3*R*-二羟基戊酸片段，是与酶活性中心结合的药效团，其余部分是与酶的疏水腔结合的基团。疏水部分虽然也构成了药效团的一部分，但更重要的是作为分子的骨架，支撑 1*S*, 3*R*-二羟基戊酸片段，并调节分子的宏观物理化学性质，因此有不同的药代行为，影响药物的效力。

12.2.2　药物的宏观性质体现在分子质量、溶解性、脂溶性和极性表面积等因素

12.2.2.1　分子质量是影响先导物的质量和化合物成药性的重要参数

药物的分子尺寸可由多种参数表征，最简捷的是分子质量。先导物的分子质量对成药性有很大影响。虽然分子质量大的化合物由于功能基团多而增加了与受体结合的机会和强度，但也带来不利因素。首先，大分子质量不利于药物的过膜和吸收。研究表明，当化合物的分子质量接近磷脂分子质量时，穿越细胞膜的磷脂双脂质层在能量上是不利的，以致降低了吸收性和过膜性[4]，药物以扩散方式穿越细胞膜，存在分子质量阈值，该阈值是为了穿过膜上的小孔，小孔是双脂质层的脂肪侧链暂时纽结而形成的。分子质量大于阈值时，因超过孔径而难以过膜[5]。分子质量大的化合物还可能含有容易被代谢的基团和毒性基团，不适宜作先导物。

分子质量大的天然活性化合物作先导物，多数情况下结构的变化不大。如果用化学剖裂手段简化结构，则需要在分析构效关系的基础上，确定必需的微观结

构即药效团。对于由合成的化合物发现的苗头分子，当演变成先导物时，以及先导物在优化的过程中，人们往往容易加入新的基团或片段，旨在增加与靶标的结合机会，而较少去除基团或片段，以免丢失参与结合的原子或基团，以致在优化过程中，增加了分子质量[6]。

12.2.2.2　水溶解性对体外筛选和体内活性都有非常重要的影响

化合物的水溶解性是个重要的物理化学性质，对体外筛选、体内的活性评价以及临床药代和药效都有影响。活性筛选需要化合物有溶解性，否则不易测定，或难以重复，结果不可靠。难溶物质可能是与分子有较强的亲脂性和疏水性相关，容易发生聚集作用，形成聚集体(aggregate)，这些聚集体可与靶蛋白发生相互作用，出现假阳性结果[7]。

药物的水溶解性也是口服吸收的前提，是药物穿透细胞膜的必要条件。口服药物经胃肠道黏膜吸收，需要呈高度分散的状态，水溶解性的重要意义在于使药物呈分子分散状态。溶解度数据也用于估计在体内的吸收、分布、代谢、排泄等临床前试验的参数和初期临床试验的前景。

为了提高化合物的水溶解性，在分子骨架上不影响药效团结合处引入溶解性基团，有望改善药代而增加药效。例如吉非替尼(gefitinib，3)和拉帕替尼(lapatinib，4)都是在喹唑啉环的 6 位引入亲水性基团，不影响与激酶活性中心的结合，且增加了水溶性。

F　HN　Cl　N　O　O　H$_3$C　O　N　N

3

H$_3$C　S　O　O　H　N　O　HN　N　N　O　F　Cl

4

12.2.2.3　脂溶性对药物的生物药剂学、药代动力学和药效学都有贡献

脂溶性在药物中的作用涉及多个方面，在生物药剂学方面，影响药物分子在剂型中的溶出和分散度以及制剂的稳定性等；在药代动力学上，整体分子的亲脂性可影响过膜性，与血浆蛋白的结合能力，组织中的分布，穿越血脑屏障能力和代谢稳定性等；在药效学上，亲脂性基团或片段参与同受体的亲脂性腔穴或裂隙的疏水相互作用，促进药物与靶标的结合。

12.2.2.4　理想的药物使亲脂性和亲水性处于最适状态

由于生物膜的脂质性质，要求药物分子有一定的亲脂性，以保障穿越细胞膜；但又应有足够的亲水性以确保药物分子在水相中的分配。所以，理想的药物应具有亲水性和亲脂性的良好匹配。化合物可分成亲水性、亲脂性、离解性和既不溶水也不溶脂性等物质，它们对药物性质的影响，可用图 12-4 表示。药物穿越细胞膜应兼有亲水和亲脂的双重性质。

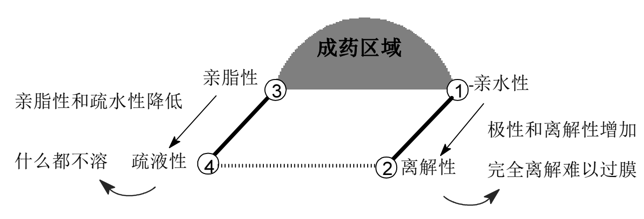


图 12-4　化合物的亲水性、亲脂性与过膜性的关系

图 12-4 中①是极性亲水性分子，如山梨醇和糖醇类化合物，由于缺乏脂溶性难以被动扩散方式穿越细胞膜；②是易离解的化合物，如季铵盐、磺酸和含两性离子的化合物，虽易溶于水，但因电荷的存在不易穿越生物膜；③是非极性的脂溶性化合物，例如维甲酸类化合物，几乎不溶于水，但可以穿越细胞膜；④是既不溶于水也不溶于脂相的疏液性分子(lyophobic molecule)，多含氢键的给体和接受体，形成分子间的缔合，难以过膜吸收，例如灰黄霉素和尿酸等。理想的药物应是兼有亲水性和亲脂性的化合物，处于图 12-4 的扇形区域，这就是在定量构效关系中称作最适分配系数(log P_{opt})的化合物。水溶性保障了呈分子分散状态，为吸收作好了准备，脂溶性是穿越细胞膜的重要条件。二者多次在水相-脂相分配，实现在体内的转运和分布。

12.2.2.5　极性表面积

极性表面积(polar surface area，PSA)系指分子中极性原子表面之总和，极性原子是指氧、氮和与之相连的氢原子[8]，单位是 Å^2。极性表面积可通过计算极性原子的范德华表面积得到，虽是一个表征分子微观性质的参数，但由于它是极性原子性质的总和，并不显示原子的特异性和分布，而且该参数通常与药物的吸收和过膜(小肠和血脑屏障等)过程相关联，所以视作分子的宏观性质。

药物分子的 PSA 是定量表征化合物极性的一种参数，PSA 越大，极性越大。根据统计学分析 1590 个 II 期以上临床研究的口服非 CNS 药物，PSA 最高阈值为 120Å^2，其中，50~80Å^2 出现的最多。超过 120Å^2 的药物难以吸收。Kelder 等分析

776 个口服 CNS 药物，最高阈值为 60~70Å^2，出现最多的是 10~50Å^2，说明作用于中枢神经系统的药物要求有更低的 PSA 值，而且随着 PSA 的增加，肠中吸收和向中枢的透入量降低[9]。

12.2.3　药物分子的微观结构是与靶标活性部位结合的特异性原子、基团或片段

12.2.3.1　药物的药理作用是个性表现，由微观结构所决定

药物呈现药理作用，是由于同机体的靶标发生特异性结合，进而引发生物物理和(或)生物化学变化的结果。这些生物大分子的化学组成不同，有不同的三维结构和构象，与配体的结合部位也不同。即使同源性较强的蛋白质，也由于某些氨基酸残基的不同，腔穴或裂隙的形状与大小不同，原子和基团的亲水性、疏水性、静电性的差异，成为设计选择性作用的药物的基础。例如，环氧合酶-1(COX-1)和环氧合酶-2(COX-2)的结构差异，是设计选择性COX-2抑制剂的前提。由此研发的三环化合物塞来昔布(selecoxib，5)和艾托昔布(etoricoxib，6)与传统的非甾体抗炎药的分子形状、大小和基团配置不同，成为选择性抑制COX-2的抗炎药物。

5　　　　6

12.2.3.2　药物分子并非所有的原子与靶标结合，与某些位点结合是启动或呈现活性的原动力

配体与靶标发生相互作用，并非整个分子都参与了复合物的结合，常常是靶蛋白的裂隙或腔穴是配体的结合位点。同样，受体的天然配体、酶的底物或药物也不是所有的原子都参与同靶标的结合，而只是少数原子和基团起主要作用。经典的药物化学三点作用学说，虽然过于简化，但反映了这种结合特征。

研究药物-受体复合物的结构，例如用 X 射线衍射分析复合物的晶体结构、二维核磁共振研究受体与配体在液相中的相互作用，以及用分子模拟等方法，有助于解析药物与靶分子的相互作用本质。

表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂埃罗替尼(erlotinib，7)与激酶的结合，是竞争性地占据了 ATP 位置，因而阻止了 ATP 对酪氨酸残基的磷酸化。多数“替尼”类药物具有喹唑啉环结构，其 N^1 和 N^3 作为氢键接受体，分别与 Thr766 和 Met769(经过结构水)形成氢键，固定于活性部位，4 位的胺苯基与疏水腔发生疏水相互作用，这三个结合位点是产生抑制作用的基本要素。若分子结构中的原子或基团配置满足上述要求，则可能有抑制作用，至于这些要素是以怎样的结构形式表现，连接在什么分子骨架上，则可有较大的变动。例如染料木黄素(genistein，8)虽然是黄酮类化合物，但与 EGFR 激酶以相似的模式结合。图 12-5 是染料木黄素分子对接到活性部位的结合方式，5 位羟基氧与 Met769 的 NH 形成氢键，4 位酮基氧经结构水分子与 THR766 形成氢键，3 位苯环进入疏水腔中，与埃罗替尼的结合模式相同[10]。

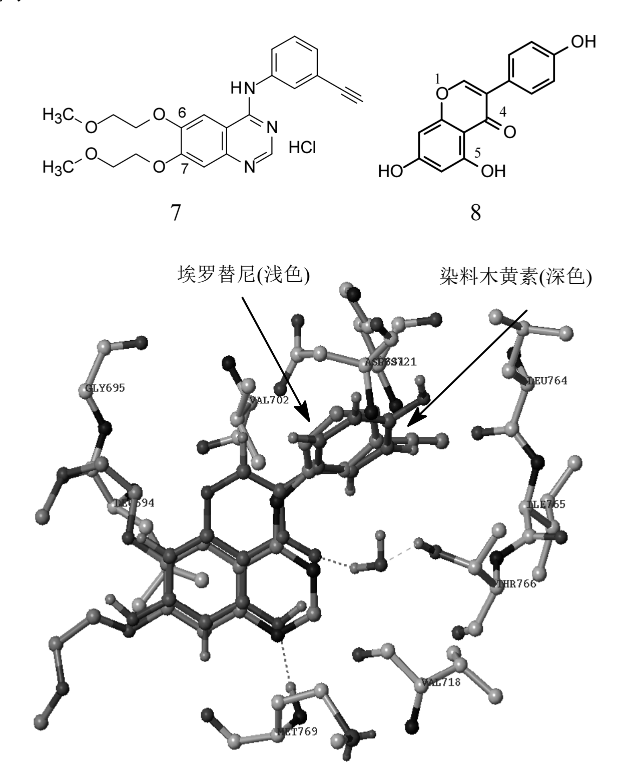


图 12-5　染料木黄素与埃罗替尼同 EGFR 激酶对接的比较

天然活性物质的结构简化也佐证了微观结构这一概念。镇痛药吗啡(morphine，9)的结构改造，说明吗啡分子中存在“多余”的原子，它们不参与同阿片受体的结合，所以可以去掉。由吗啡为先导物研发的阿片类药物雷米芬太尼(remifentanil，10)，芬太尼(fentanyl，11)和哌替啶(pethidine，12)，提示微观结构特征是疏水的

芳环、经 3~4 个原子单元与叔氮原子相连，微观结构体现了与阿片受体结合的药效团，是启动镇痛作用的关键因素。

9　　10　　11　　12

12.2.4　药效团反映的是药物分子与受体结合的微观特征

药效团是药物呈现特定生物活性所必需的物理化学特征及其在空间的分布。从药物-受体作用的视角看，是结合部位发生互补性结合所必需的关键性原子和基团，这是受体对药物分子的最基本的结构要求。不同的靶标，药效团特征是不同的，所以具有个性行为。

药效团是从通过分析药物的化学结构与活性之间的关系得到的，具体地讲，是从区别有活性和无活性的界面(定性)，或分析活性强或弱的分子的结构差异(定量)提取出来的，抽象出非连续性的物理化学特征。药效团也可以从受体靶标分子的三维结构出发，分析受体蛋白的结合腔或裂隙的结构以及同配体结合的原子和基团的特征演绎而成。

药效团的特征是对受体关键结合位点的映射，是对构效关系的升华、概括和凝练。所以，在保持药效团不变前提下，用新的结构骨架连接和支撑药效团特征，可设计新的活性分子。新分子的设计，可以用药物化学的方法，如电子等排原理，优势结构概念以及骨架迁越的理念来实现，也可以用药效团与化合物比对，进行数据库筛选，获得新的苗头分子或先导物。所以药效团是模拟创新药物(follow-on drug)设计的依据和基础。

药效团特征是具有物理或化学功能的单元，用原子、基团或化学片段来表示，其特征可分为六种：正电中心，负电中心，氢键给予体，氢键接受体，疏水中心和芳环质心，这六种特征可以不同的组合和距离，形成特定的药效团。

分析临床药物的药效团特征可归纳有以下的特点[11]：

(1) 不少于 3 个药效团特征，只有 2 个特征的化合物不能成为药物。

(2) 不多于 6 个药效团特征，超过 6 个特征的化合物不具有类药性。

(3) 至少有 1 个芳环或脂环，没有环系的化合物不具类药性。

(4)一般不含有相同或相异的两个电荷。

这些特点反映了药物所需的药效学的特异性和适宜的药代动力学的起码要求。

12.2.5　先导物的优化是对分子的物化性质、药代和药效的综合修饰

药物分子设计的切入点和目标，是发现具有特定药理活性的新型结构；优化不仅仅只限提高药效强度和选择性，还需改善物理化学性质和药代动力学性质。一味强调药效强度，追求高活性，而忽略物化和药代性质，也会导致药物的效力低下，达不到治疗效果，这往往也是体外有活性而体内无效的原因。

先导物优化以改善物理化学性质，可影响制剂的质量。良好的物化性质，会使剂型设计更加自如，获得高质量的剂型。不良的物化性质使药物先天不足，这些缺点难以指望药剂学完全克服。

结构优化是创造这样一个化学空间，使化合物的药效性质与可开发性(物化和药代性质)共处其中。在这个空间里，既包含有微观结构以呈现药效强度和选择性，又涵盖了分子的整体性质，以确保药代行为和制剂质量，协助药物效力的发挥。这是一个由多维因素构成的空间，这三方面的性质对结构空间要求不尽相同，但只有在空间中的交盖才有成药的可能性。图 12-6 分析了各个结构空间的关系与成药的可能性[12]。(a)是物化与药代所处的结构空间不仅与药效空间交盖而且与选择性空间有重叠，因而有开发成药的可能性，交盖的范围越大，意味着研发的化学空间越大，成药的类型也越多。(b)是可开发性空间与活性空间虽有交盖，但未交盖于选择性，在这样的交集中研发的药物会因缺乏选择性而有潜在的副作用。(c)的两个空间是分离的，这往往是只注重体外活性的优化，忽视物化性质和药代品质的后果，在这样的割裂空间中，成药的可能性很小。

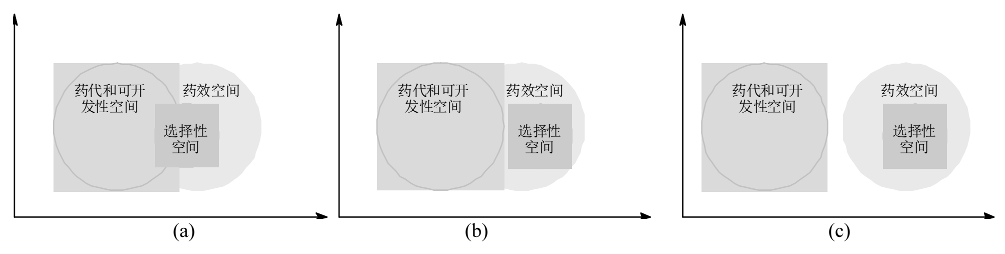


图 12-6　药物分子设计中药代动力学空间、物化空间、药效空间和选择性空间之间的关系

12.3　骨 架 变 换

12.3.1　药物分子是由骨架与药效团组合而成

上一节论述了药物分子的宏观性质与微观结构的关系，也提出了药物是由结构骨架与药效团所构成。药效团是对已有活性分子结构本质的解析，是对现实药物的深化认识与抽象。然而，药效团只有“附着”在化学骨架上，才能体现药理活

性，分子骨架犹如药效团的“赋形剂”，使决定活性的功能基团体现于实际的分子结构中。骨架具有连续的结构特征，这与离散断续的药效团相反。没有适宜的骨架支撑，药效团构不成分子实体，不能呈现药理活性；没有药效团的化学骨架，不会产生药理作用，不能成为药物。所以，药效团与骨架是相互依赖而存在的，二者缺一不可，共存于药物分子中。这样，药物可认为是由适宜的骨架连接并支撑着必需的药效团所组成，新药的创制，是在发现活性分子基础上的骨架变换和药效团的优化。

分析模拟创新药物(follow-on drug)之间的结构关系，可认为是保持药效团前提下，变换结构骨架，或者不改变骨架，只变换骨架上的某些原子或基团。保持药效团的结构特征不变，以维持特定的药理活性；变换分子骨架，赋予了分子新的性质，例如改善药代性质或物化性质，有利于发挥药效，同时，新的骨架体现了结构的新颖性，具有知识产权的自主性。

骨架变换的依据是受体的柔性和可塑性，形成了“杂泛性”(promiscuity)的空间，杂泛性并非是贬义词，表示了受体结合部位的可变与多样性，倘若这种杂泛性越大，可容纳的配体分子的结构多样性就越多，意味着结构修饰与变换的余地大，成药的机会多[13]。

12.3.2　骨架结构变换的三个层次

针对已有活性化合物的结构，设计合成同类活性的新化合物，可以有不同的修饰和变换方法。修饰的方略，既可以是母核上原子或边链的变化，也可以改变母核骨架。这些药物化学方法，大体可分为三个层次：以电子等排原理变换骨架结构；以优势结构为导向变换骨架结构；以结构-活性演化的方式变换骨架结构。

12.3.2.1　电子等排

利用生物电子等排原理对原子、基团或片段加以变换，包括环-链/链-环的变换等。经典的电子等排扩展为生物电子等排后，分子设计中的相似性概念更加宽泛，等排原理形成了多层次的替换。

芳环或脂环之间的变换是片段的置换，环之间 π 电荷与疏水作用的相似性，常见于模拟性创新物。例如抗抑郁药氟西汀(fluoxetine，13)、依他普仑(escitalopram，14)、度洛西汀(duloxetine，15)为 5-HT 重摄取抑制剂(度洛西汀又是去甲肾上腺素重摄取的双重抑制剂)，它们的药效团为碱性氮原子和两个芳香环，芳环的置换既包含了药效团的等排变换，也体现了分子骨架的变化(苯环、苯并二氢呋喃环和萘环)。

13　　14　　15

抗流感病毒的神经氨酸酶抑制剂是变换骨架的有代表性的例子，在一定意义上骨架只起到药效团的定位和支撑作用。奥司米韦(oseltamivir，16)骨架为环己烯，扎那米韦(zanamivir，17)骨架是二氢吡喃，派拉米韦(peramivir，18)骨架为环戊烷，而药效团羧基、碱性氮原子(胍基或氨基)以及甲基的相对位置是相同的。

16　　17　　18

HMG-CoA 还原酶抑制剂即“他汀”类降胆固醇药物，都含有二羟基戊酸(或形成内酯)的片段，经两个碳原子与一疏水片段结合，这两个片段既是药效团又形成了分子整体。对天然产物洛伐他汀(lovastatin，19)进行优化，实际是保持二羟基戊酸的片段不变，只改换骨架的疏水片段，如氟伐他汀(fluvastatin，20)和阿托伐他汀(atorvastatin，21)等。分子模拟表明，这些药物都以相同的方式与 HMG-CoA 还原酶结合[14]。该酶具有柔性构象，杂泛性的结合腔，可容纳不同骨架的他汀类药物。

19　　20　　21

值得提及的是，全球持续销售量最大的药物之一阿托伐他汀专利即将到期，辉瑞公司为研发新一代他汀，则以阿托伐他汀为起点，合成与吡咯并环的构象限

制体，发现含七元内酰胺并吡咯骨架的化合物 22 仍保持高活性[15]。

22

12.3.2.2　优势结构

优势结构(privileged structure)是药物分子设计的一个概念，最先为 Evans 提出，其含义是“某单一结构骨架可构成对多种受体相结合的配体分子”[16]，药物化学家应用这一概念可以在多种治疗领域中迅速发现具有生物活性的化合物。优势结构是对已有药物骨架的提炼与概括，即把成功药物的最常出现的结构骨架抽提出来，便于骨架变换的参考与应用。

根据统计，临床上半数以上药物的骨架结构集中于 32 种结构片段，说明这些结构骨架占有优势[17,18]。其中，苯并(二)氮䓬、联苯、苯基吡啶、苯基-1,4-二氢吡啶、*N*-苯基哌啶、*N*-苯基哌嗪、二苯甲烷及其并环等结构是比较成熟的常用结构骨架。激酶抑制剂的优势结构在研发抗肿瘤药物方面占有突出的地位。由于激酶在催化受体蛋白磷酸化、启动细胞信号转导中起主要作用，因此，激酶抑制剂往往模拟 ATP 的结构，通过与酶的活性部位结合起到抑制作用。Ghose 等对激酶抑制剂的结构进行了分析，提出最大共同的亚结构概念，总结出如图 12-7 所列的骨架分子[19]。

图 12-7　激酶抑制剂的骨架

12.3.2.3　骨架迁越

骨架迁越(scaffold hopping)概念最早是以计算技术引入新药研究的，目的是在已知的数据库中，寻找与苗头化合物完全不同的拓扑骨架，并仍然保持有原来的生物活性[20,21]。换言之，就是从已知的活性分子结构出发，通过计算化学方法发现新的拓扑结构的活性分子。由于在新药研究中的广泛应用，骨架迁越在现代药物化学占有突出的地位。而且，骨架迁越的理念已不限于计算的方法，药物化学家在用传统的类似物设计方法同时，还对先导物做骨架设计，以设计全新骨架，实现骨架的变换[22]。

1. 骨架迁越的意义

由苗头物到先导物的演化过程，以及先导物优化成候选药物，经常涉及骨架的变换，以改变已有活性分子的母体结构，目的是多方面的：

(1) 改变物理性质，如增加药物的溶解度：将亲脂性的骨架用极性骨架替换。

(2) 改变药物的分配性：调整骨架亲水-亲脂的相对程度。

(3) 提高药物的稳定性：将容易发生代谢作用的骨架用代谢稳定性的毒性低的骨架替换。

(4) 改善药代动力学性质：药物的毒性或不良反应有时是因骨架结构所致，例如吡啶和咪唑为骨架的药物常与细胞色素 P450 结合，呈现不良反应，氨基噻唑的骨架具有代谢不稳定性等。

(5) 降低分子的柔性：一些活性分子的柔性键过多，如肽类药物，构象的多样性导致与受体的亲和力降低。减少柔性键或用刚性骨架替换，可提高与受体的结合力，并且也改善药代动力学行为。

(6) 提高对受体的亲和力：有的骨架不只是对药效团起支撑作用，而且也参与同受体的结合。改变骨架可以提高对受体的亲和力。

(7) 从知识产权的角度考虑，骨架的改变产生了新的结构，能够获得专利保护。

下面以实例说明基于药物化学方法的骨架迁越。

1) 5-HT 重摄取选择性抑制剂

抗抑郁药 5-HT 重摄取选择性抑制剂有多种结构骨架，例如，氟西汀(fluxetine，23)为苯氧基取代的苯丙胺化合物，舍曲林(sertraline，24)为苯基取代的四氢萘胺，帕罗西汀(paroxetine，25)为苄氧取代的 4-苯基哌啶，它们是完全不同的分子类型，但其抑制 5-HT 转运蛋白的结构基础有共同性，即在两个芳环的适宜距离处有个二级胺，这就是药效团特征。至于芳环是单独存在还是呈并合形式，环上有怎样的取代基，仲胺是在链上或是参与杂环内，则有很大的变通性。

23　24　25

2) 多巴胺受体激动剂

多巴胺受体激动剂具有多样性骨架，但都含有多巴胺(dopamine，26)的结构因素。阿扑吗啡(apomorphine，27)为 D_2 激动剂，用于治疗帕金森病和男女性功能障碍，为四氢萘并四氢异喹啉结构，苯乙胺片段隐含于儿茶酚和四氢异喹啉环之中。非诺多泮(fenoldopam，28)是 D_1 激动剂，临床治疗高血压，为苯并氮䓬骨架，也含有儿茶酚乙胺的结构。罗替戈汀(rotigotine，29)为 D_2 和 D_3 激动剂，治疗帕金森病和多动腿综合征，分子的骨架为四氢萘胺。喹吡罗(quinpirole，30)为 D_2 激动剂，治疗高血压病，骨架为吡唑并八氢喹啉，吡唑乙胺是多巴胺的电子等排体。

26　27　28　29　30

3) 水杨酸与喹唑啉环的骨架变换

水杨酸与喹唑啉环之间变换在新药设计中是常见的骨架迁越。薰草菌素 A (lavendustin A，31)是微生物代谢产物，对表皮生长因子受体激酶具有抑制活性，分子中含有水杨酸和对苯二酚片段，由于极性过强不能穿越细胞膜，对 A431 细胞无抑制活性。即使去除一个苯酚片段(32)仍无抑制细胞作用。进而将对苯二酚基甲醚化和羧基酯化(33，IC_{50}=47 nmol/L)，并进行了临床研究。依据水杨酸与喹唑啉环互为电子等排体，得到化合物 34(IC_{50}=7 nmol/L)，再将喹唑啉环上的甲氧基变换成乙基(35)，活性提高到 IC_{50}=4 nmol/L，降低了分子的极性[23]。这个实例说明在骨架迁越中，水杨酸成功地变换为喹唑啉环。

31　　32　　33

34　　35

Blum 等研究辣椒素受体 1(VR1)拮抗剂也涉及水杨酸与喹唑啉环的变换。VR1 又称 TRPV1，属于离子通道瞬时型受体家族的成员，VR1 受体阻断剂是抑制疼痛的非阿片类药物。经随机筛选发现芳香脲化合物 36 具有拮抗作用，但溶解度和生物利用度低，化学和代谢不稳定。经电子等排置换 B 环，合成得到化合物 37，提高了化学和代谢稳定性。进一步合成类似物，得到化合物 38(IC_{50} = 43 nmol/L)，当水杨酸片段的羟基被甲基化后 IC_{50} ＞ 4000 nmol/L,说明分子内氢键和平面的重要性。为此，将二芳基酰胺环化成氨基喹唑啉，得到化合物 39，IC_{50} = 1.1 nmol/L，$t_{1/2}$=8.1 h，t_{max}=0.7 h，F=99%，成为新一轮的先导化合物[24]。

36　　37　　38　　39

笔者等研制表皮生长因子(EGFR)激酶抑制剂，根据 EGFR 抑制剂埃罗替尼(erlotinib，40)与激酶晶体的三维结构的结合特征，设计合成了水杨酸酰苯胺类化合物(41)，水杨酸的酰基氧与酚羟基形成分子内氢键，两个氧原子作为氢键接受体，固定在激酶的活性部位，取代的苯胺环以低能构象的取向进入疏水腔。为了提高对 EGFR 的抑制活性，于 4 位(相当于喹唑啉环的 6 位)连接烯丙酰氨基，后者作为弱亲电试剂可与酶开口处的 Cys773 发生迈克尔加成反应，成为不可逆性抑制剂，增加了化合物的活性[25]。

40　　41

4) 鞘氨醇-1-磷酸受体拮抗剂

鞘氨醇-1-磷酸(S1P，42)是强效的脂质调节剂，由鞘磷脂代谢而产生。S1P 作用于 G 蛋白偶联受体，信号进入细胞内，参与调解多种细胞功能。S1P 受体有 5 种亚型，S1P1 受体底物为 S1P。从冬虫夏草 *Isaria sinclairii* 分离出的天然产物多球壳菌素(myriocin，43)具有免疫抑制活性，为 S1P1 受体激动剂。分子含有三个手性中心、一个反式双键以及长脂肪链。过多的手性原子会增加新药研发的复杂性，因而 Fujita 等改变分子骨架，消除手性原子和双键，维持长链的疏水性，优化出 fingolimod (FTY-720，44)。该化合物抑制淋巴细胞向炎症与免疫反应部位浸润作用强于 43，在临床试验中用于抑制器官移植的排异反应[26]。由于 FTY-720 是在体内经磷酸化而形成活性形式，进而合成了其磷酸单酯及其光学活性成分(45)[27]。其实，后继研究的各种骨架的 S1P1 受体激动剂如化合物 46[28]、47[29]和 48[30]都含有必需的药效团，骨架发生迁越。

42　　43

44：R = H;　45：R = $PO(OH)_2$　　46

47　　48

5) 组蛋白去乙酰化酶抑制剂

组蛋白上特定的ξ赖氨酸的乙酰化和去乙酰化在基因转录过程中起重要作

用，它们分别由乙酰化酶(HAC)和去乙酰化酶(HDAC)催化，若这些酶活性异常，则上述过程失去控制，进而导致癌症。HDAC 是研究抗癌药物的靶标。最初发现的 HDAC 抑制剂曲古抑菌素 A (trichostatin，49)是含有长链的羟肟酸天然活性物质[31]，合成的类似物 SAHA (vorinostat，50)保留了苯环、长链和羟肟酸，消除了双键和手性中心，现处于临床研究阶段，用于治疗乳腺癌和结肠癌[32]。MS-275(51)是另一个处于临床研究阶段的 HDAC 抑制剂，其结构是用芳环和酰基代替长链，并以邻苯二胺的酰胺作为羟肟酸的等排体，该化合物仍保持了抑制活性，也容易合成[33]。

49　50　51

化合物 PXD-101(52)的结构简化为间位磺酰苯胺取代的桂皮酸羟肟酸，骨架变换虽很大，但仍保持活性，现正处于临床研究阶段[34]。HDAC 抑制剂骨架允许有较大的变迁，这可由复合物的晶体结构特征加以解释，上述候选药物结构左侧的苯环或吡啶环处于酶活性中心的外表面上，右侧的羟肟酸基团与锌离子发生螯合作用，中间的连接基叠合于两个苯丙氨酸残基 Phe141 和 Phe198 之间，这可说明为什么连接基既可用适宜的脂肪链，也可加入芳香环[35]。据此，Charrier 等设计了茚酮类化合物，X 为 C_3-C_5 的亚烷基链、芳香环或杂环，Y 为羟肟酸或邻氨基苯[36]。

X = $(CH_2)_{3,4,5}$ 或芳杂环
Y = OH 或2-氨基苯

52

6) H_3 受体拮抗剂

H_3 受体拮抗剂与 H_1 受体拮抗剂(抗过敏药物)和 H_2 受体拮抗剂(抗溃疡药物)不同，主要用于治疗肥胖症和认知障碍[37]。研制 H_3 受体拮抗剂过去多模拟组胺的部分结构，如今更注重非咪唑类化合物。化合物 53 体外对 H_3 受体有强效抑制作用[38]，但该桂皮酰胺骨架存在双键，具有代谢和化学不稳定性，而且这类物质往往抑制 *h*ERG 通道，具有潜在的心脏毒性作用。降低分子的亲脂性可能消除对 *h*ERG 的抑制作用，为此引入氮原子增加极性且消除双键的不稳定性，合成了系列化合物，虽然 54 的活性略有降低(R=Ph，K_i =87 nmol/L)，但无 *h*ERG 抑制作用。以此骨架为出发点，合成了含有哌嗪环的脲基，并且环合成吡咯环，得到化合物 55，K_i =59 nmol/L，但 55 仍有 *h*ERG 抑制作用，进而变成如化合物 56 的骨架，结果 56

对 H_3 受体的 K_i =17 nmol/L，并消除了对 *h*ERG 的不良反应[39]。

53　　54　　55　　56

7) 缓激肽 B_1 受体拮抗剂

缓激肽 B_1 受体(BK B_1)拮抗剂可降低炎症介质引起的疼痛刺激，因而是潜在的治疗慢性炎症和镇痛的药物。Wood 等发现化合物 57 有强效的抑制活性，但母核 2,3-二胺基吡啶因丰富的电荷密度具有代谢不稳定性，易生成有反应活性的代谢产物。化合物 58 是用饱和碳链替换吡啶环，增加了柔性，但活性很低，59 和 60 的活性提高，这是由于 59 和 60 的酰胺的羰基氧类似于 57 的吡啶环的 N 原子，并且该羰基保持了与苄胺的立体电子构型。化合物 60 的环丙基具有乙烯的不饱和特征，可保持局部构型，而用 4、5、6 元环代替环丙基使活性下降，这可能是环丙基模拟了吡啶环上的 sp^2 杂化态，羰基与环丙基的超共轭以及环丙基的张力，使得 59 与 60 构象类似于 57。环丙基也具有类似于吡啶的平面性，这样经骨架迁越和优化得到高活性的 61[40]。

BK B_1 K_i=1.8 nmol/L,
犬: F=9%, $t_{1/2}$=0.15 h, Cl=35 mL/(min kg)

57　　58　　59

BK B_1 K_i=0.4 nmol/L,
犬: F=33%, $t_{1/2}$=1.8h, Cl=9 mL/(min·kg)

60

BK B_1 K_i=63 nmol/L,
犬: F=26%, $t_{1/2}$=9.5h, Cl=9.3 mL/(min·kg)

61

由苗头化合物演化成先导物，进而优化成候选药物，在由活性化合物演变成安全、有效、稳定、可控的药物过程中，是在保持药效团的前提下，变换分子骨架、修饰基团和边链的分子操作，这是药物化学的精髓，凝集和整合了诸多学科和领域的原理、知识与技术。为了提高新药创制的成功率，需要在正确的理念和策略指导下，恰当地运用这些化学和生物学的原理和方法。

12.4　模拟创新药物

12.4.1　首创性药物和模拟创新药物

在新药创制中，按照药物作用靶标的新颖程度可将创新药物分为两类，即首创性药物和模拟创新药物。这两类药物的研发目标虽然都是具有知识产权和有市场潜力，但起步点和涉及的技术方法有所不同。

首创性药物(pioneering drug)是指药物作用的靶标是全新的、首次发现的生物大分子，是以发现(discovery)新的靶标并通过确证(validation)而起始的研发项目，由生物学研究为引擎。所以，首创性药物是生物学驱动，目标是创制作用于新的靶标、新的作用环节和机制的新化学实体(new chemical entities)。由于发现与疾病相关的基因及其表达产物，确证与病理过程相关，并成为药物干预的靶标，所以投入巨大，持续时间长，风险大。

模拟创新药物(follow-on drug)是指研制药物的作用靶标是已知的，靶标结构大都明确，而且有已知的活性化合物或药物作参考，因而可基于受体结构或根据药效团进行设计。模拟创新药物是以化学作为驱动研究的。研发的药物可认为是模仿性的跟进(me-too)，或是优于已有的类似药物(me-better)。这种研发模式的问题是，当一个新靶标被披露，或相应的药物进入临床研究或上市后，往往有众多的研发跟进，因此竞争激烈，研制的化学空间较小，市场空间比较拥挤。研制模拟创新药物的关键是速度和对已有药物的超越。表 12-2 比较了首创性药物与模拟创新药物的区别。

表 12-2　首创性药物与模拟创新药物的比较

内容	首创性药物	模拟创新药物
研制药物的目标	唯一，领先	超越，跟进
靶标	全新，未知	已知
靶标结构	未知	已知
配体或活性分子	无	有

续表

内容	首创性药物	模拟创新药物
药效团	无	有
化学空间	大	局限
投入	大	相对较小
市场竞争	暂时无	激烈
风险性	大	相对较小

12.4.2 药物模拟创新的必要性

新药研究的模拟创新策略，具有可能性、必要性和现实性。世界各大药厂至少投入一半或更多的资源实施这个策略，因而出现作用于同一靶标、具有相似或相近结构的一批新药的市场局面。这个状况虽然反映了市场和经济效益考虑，但更是因为药物的模拟创新是必要和可行的。

12.4.2.1 首创药物有巨大的优化空间

首创药物未必被充分优化，因而有较大的优化空间。由于首创药物的研发周期长，投入和风险大，因而制药公司为了占据市场的有利地位，往往因急于推向市场而未对先导物作充分的优化，从而在药效、选择性、药代或物化性质上有待进一步提高和改善，许多实例证实后续的模拟创新药物明显优胜于首创的第一个药物。例如血管紧张素转化酶抑制剂首创的降压药卡托普利(captopril，62)的副作用，被后来的依那普利(enalapril，63)所克服。

62　　63

12.4.2.2 路径清晰、成功率高

模拟创新的靶标和作用机理明确，研发路径清晰。首创药物已经积累了大量的化学、生物学信息和经验，可以通过各种技术和方法来分析首创药物的成功经验和不足之处，使模拟优化更加有效。例如对于受体和配体了解得比较清楚，可进行基于受体结构或基于药效团的分子设计，因而投入较小，风险较低，成功率

较高。

12.4.2.3　克服化疗药物的耐药性

一些首创的化疗药物在应用一段时间后，会使细菌、病毒和癌细胞等病原体发生变异，以逃逸药物的作用而产生耐药性，这样，导致疗效降低或失效，所以，后续的模拟性改构是非常必要的，例如不断更新换代的头孢类抗生素和 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂拉帕替尼等抗肿瘤药的研制反映了这种需求和趋势。

12.4.2.4　知识产权的需要

首创药物在临床应用中发现更大的新适应证，但此时首创药物可能已失去专利保护，模拟和更新是非常必要的。为了延伸即将到期的专利，模拟创新也具有商业上的需要。例如，辉瑞公司的畅销药阿托伐他汀(21)专利即将到期，按照结构改变最小的原则设计了并环化合物 22[41]。

氮移位
关环

21　　22

12.4.3　分子骨架和药效团概念是药物模拟创新的基础

分析模拟创新药物与首创药物的结构特征，可认为是在保持药效团前提下，变换结构骨架，或者不改变骨架，只变换骨架上的某些原子或基团。保持药效团不变，保障和维系了特定的药理活性；变换分子骨架，赋予了分子新的性质，例如改善药代性质或物化性质，有利于发挥药效，同时，新的骨架体现了结构的新颖性，具有知识产权的自主性。

模拟创新药物的分子设计，主要是骨架的变换，变换的方式很多，可归纳为 3 个层次：电子等排，优势结构和骨架迁越。

12.4.3.1　以电子等排原理变换骨架结构

电子等排置换是药物化学和分子设计的经典方法，包括原子、基团和环系之

间的变环。抗溃疡药物 H^+/K^+ATP 酶抑制剂奥美拉唑(64)作为首创药物上市后不久，模拟性药物兰索拉唑(65)和泮托拉唑(66)相继问世。变换的方式是用氟原子替换氢，避开了原创的专利。而且兰索拉唑的药代动力学性质强于奥美拉唑。泮托拉唑用二氟甲氧基代替奥美拉唑的甲氧基，提高了代谢稳定性。

64　　65　　66

组氨 H_2 受体阻断剂的首创药物是西咪替丁(67)，是以组胺为出发点，经药物化学的结构衍变研发的卓越范例，其后继的模拟创新药物如雷尼替丁(68)和法莫替丁(69)等，分别是用呋喃和噻唑环代替了西咪替丁的咪唑环，同时对侧链的取代基作适当的变换以调整分子的碱性，使得模拟创新的替丁超越了首创分子。

67　　68　　69

12.4.3.2　以优势结构为导向的变换骨架结构

治疗男性勃起障碍的磷酸二酯酶 5 抑制剂西地那非(sildenafil，70)是首创药物，虽是偶然发现的，却具有划时代的意义。伐地那非(vardenafil，71)是将母核骨架异嘌呤的氮原子易位，成为新的骨架，乌地那非(udenafil，72)是韩国 2005 上市的模拟新药[42]，其药效学强度和选择性以及药代动力学性质均优于西地那非，且研发的时间与成本也低于西地那非。

70　　71　　72

12.4.3.3　以结构-活性演化的方式进行骨架迁越

钠葡萄糖共转运蛋白 2(sodium glucose cotransporter-2，SGLT-2)是治疗 2 型糖尿病的药物靶标，最初发现 SGLT 抑制剂是天然产物二氢查耳酮根皮苷(phlorizin，

73)，经骨架迁越将苯酚环变成苯并呋喃得到 T-1095(74)[43]，现处于 II 期临床研究。Sergliflozin(75)是将天然产物的两个苯环距离缩短成一个碳原子，为碳酸酯前药，处于 II 期临床研究[44]。

Dapagliflozin(76)模拟 77 的二苯甲基骨架，但将 O-葡萄糖苷变换成 C-糖苷，提高了稳定性。76 处于 III 期临床研究阶段[45]。化合物 77 是通过螺环将糖环固定，对构象加以限制，成为新结构类型的 SGLT 抑制剂。

73　　74　　75

76　　77

右芬氟拉明(dexfenfluramine，78)为 $5HT_{2C}$ 受体激动剂，最初作为减肥药批准上市，但一年后(1997)被终止使用，系因具有使心脏瓣膜发生变形的严重副作用。后来证明心脏瓣膜的副作用是由于右芬氟拉明同时对 $5HT_{2B}$ 的激动作用[46]，所以，消除右芬氟拉明激动 $5HT_{2B}$ 的作用，提高对 $5HT_{2C}$ 亚型的选择性活性，是研发减肥药的重要途径。为此，对右芬氟拉明加以构象限制，得到苯并氮䓬化合物 lorcaserin(79)，它对 $5HT_{2C}$ 的选择性作用强于 $5HT_{2B}$ 100 倍，每日口服 10 mg 两次连续一年可降低体重 3.6 kg，未见心脏瓣膜的不良变化[47]，目前 FDA 已受理其上市申请。

78　　79

12.5　双靶标药物

12.5.1　新药研究的两种模式

自从 20 世纪 80 年代分子生物学介入新药研发的领域以后，新药创制的模式

发生了巨大的变化，在此之前，研制新药和评价化合物的活性，主要是以动物模型、离体器官或组织以及细胞的生理学或表型变化为指标，观察生物体的宏观现象的变化作为新药的评价体系。其后，以研究正常组织与病理状态的蛋白质差异为切入点，开始了以生物靶标为核心的新药研发模式[48]。

12.5.1.1　以表型为基础的研究模式

表型(phenotype)泛指有机体呈现的各种可观测的性质或特征，例如形态，发育，生化，生理性质以及行为等，起因于基因的表达或环境因素的影响或者两者之间相互作用。

以表型为基础的药物研究，将机体、器官或组织作为研究对象，药物作为探针，观察与疾病相关的模型出现的生理效应，过去是先导物的发现与优化的主要方法，研制的起始点为化学所驱动。由于评价方法的限制，化合物的筛选数量有限，时间较长。在药物靶标被确定之前，大都采用这种模式。这种模式的优点在于，用整体动物或组织器官作宏观评价，犹如“生物平台”，在评价药效同时，一定程度上还反映了药物的吸收、分布等药代行为和化合物的安全性，而且，呈现的药效也是生理学的总体表现，所以有较高的成药效率。

12.5.1.2　以生物靶标为核心的研究模式

以生物靶标为核心的药物研究，认为大多数疾病的发生、发展与形成是由于某种蛋白的异常而产生的，纠正或调节异常蛋白功能趋于正常状态，有可能达到控制或治愈目的。这种研发制模式由于简便和快捷给人们带来巨大的期望。随着表达和纯化蛋白技术的成熟化，引发了组合化学、高通量筛选和基于结构的理性设计，已成为新药研发的主要模式。

近 30 年来，全球投入新药研发的经费递增，但新分子实体(NME)的数量并没有相应增加，投入产出比失调，分析其原因是：第一，所选定的靶标未必或较少与疾病关联，缺乏临床数据或动物模型数据的支持；其次，离体的蛋白与机体中的蛋白所处的环境差异很大，例如体外试验是分子直接相互作用，而体内蛋白所处的环境有血液、营养物和激素的供应以及反馈机制的调控，会减弱或缓冲药物对蛋白的作用[49]；第三，疾病作为一个系统具有稳定性，一些重要的疾病如肿瘤、代谢性和 CNS 疾病等一旦形成就非常顽强和皮实，以致抑制单一靶标不能影响疾病的整体状态。

12.5.2　双靶标作用的优势

同时干扰两个或多个环节可提高治疗的效果，例如多数中枢神经系统和心脑

血管的药物大都作用于多种受体靶标。奥氮平(olanzapine，80)对至少 10 个受体亚型的拮抗作用达 nmol/L 水平，最初被贬为“赖药”(dirty drug)，却是世界销量领先的抗精神病药物。非甾体抗炎药阿司匹林、降血糖药二甲双胍以及抗白血病药物伊马替尼(imatinib，81)等都是作用于多靶标的药物。多种药物组合治疗效果优于单一药物的治疗，也说明多靶标作用的优势。在不少情况下，作用于双靶标的药物要比高选择性的单一靶标的药物更优胜[50]。

80　　81

两个药物同时作用于两个靶标，产生协同作用，表现为活性强度的增加或药效的提高。这种效果也可以在药物的不同剂量或浓度比例的组合下发生，Borisy 等用实验方法设置不同组合的浓度与比例，得到浓度-效应的三维图，提示以不同浓度和比例的组合，都可产生增效的协同效果[51]。

12.5.3　药物组合实现多靶标的作用

为了达到双靶标药物治疗目的，可有两种策略：一是将不同的药物作组合治疗，或组合成单一制剂，实现双靶标治疗，这是临床上普遍应用的方法；另一是作用于两个或多个靶标的单一化合物的策略，这是当今新药分子设计的活跃领域。表 12-3 比较了多种药物的组合治疗与作用于多靶标的单一化合物的优缺点[52]。

表 12-3　多种药物的组合与作用于双靶标的单一化合物的比较

优缺点	多种药物的组合策略	作用于多靶标的单一化合物的策略
优点	1. 用药灵活，可以调节药物组分间的比例，并由此揭示靶标的分布、强度以及靶标的生物化学计量 2. 组合的药物治疗类型和化学结构非常广泛，速度快，投入低 3. 实现个性化给药，根据患者的药理遗传组学，调整不同的组方和剂量 4. 在临床证明单一药物有效、作用机理明确的基础上合并用药，因而成功的概率高 5. 可以实现序贯性给药，发挥最大的治疗效果	1. 是单一药物，研发过程与常规的新药相同 2. 用药方便，无组合用药的剂量和比例问题 3. 没有组合药物可能出现的药物-药物相互作用 4. 是新化学实体，避免知识产权的纠纷
缺点	1. 需要确证配伍的合理性 2. 要实现药效与药代在一个剂型中协调 3. 可能发生药物-药物相互作用 4. 要向药政部门论证合用的根据，需进行一系列对照试验，证明组合的药物及剂量的合理性	1. 用理性设计的方法研发选择性作用于双靶标的药物较难 2. 用分子设计方法发现双靶标作用的先导物难，结构优化成有相同或相近的活性难度大，一个分子需要满足每个靶标的药效和药代性质的要求 3. 无法实现序贯性给药

12.5.4 双靶标药物的分类

12.5.4.1 两个受体的调节剂

药物作用的靶标可以是两种不同受体,例如作用于 G 蛋白偶联受体(GPCR)的药物，由于 GPCR 在结构上、生化功能上甚至物理性质上有相似性，比较容易实现 GPCR 双靶标药物的设计。其配体为内源性胺，如去甲肾上腺素、5-羟色胺、多巴胺和组胺等作用的特异性都取决于跨膜蛋白第 3 个螺旋上的天冬氨酸残基和其他因素的相互作用。这些受体的调节剂也因此有相似的药效团特征。然而，这种相似性也具有双刃剑性质，既是设计多靶标分子的结构依据，也有可能发生多余的非选择性结合，产生不良反应。作用于双受体的药物，可以是双激动剂，双拮抗剂，或一个是激动剂，一个是拮抗剂。

12.5.4.2 两个酶的抑制剂

以两个酶为靶标的分子设计是常见的策略，两个酶可以是级联反应中的上下游关系，例如抗炎、抗过敏和抗哮喘药物的靶标环氧合酶、5-脂氧酶和血栓烷 A_2 合成酶等，都是起源于花生四烯酸氧化代谢的级联反应中不同酶系，它们的产物如 PGE_2，白三烯和血栓烷 A_2 等均为炎症和过敏性介质，因而同时抑制两种酶有利于提高疗效。

两种酶也可以是酶的不同亚型，这在受体-酪氨酸蛋白激酶家族中尤为常见。酪氨酸蛋白激酶是一受体超家族的胞内具有催化活性的蛋白片段，具有酪氨酸激酶活性和自磷酸化位点，虽然受体的膜外蛋白的氨基酸序列不相同，但酪氨酸激酶的结构域有相似性，所以有可能设计作用于两个激酶的抑制剂，例如前述的治疗慢性髓细胞白血病的伊马替尼是 Ab_1、PDGFR 和 c-KIT 三种激酶的抑制剂[53]。治疗乳腺癌的拉帕替尼(lapatinib，82)为 EGFR 和 HER2(erbB2)激酶抑制剂，抑制信号转导系统。奥马曲拉(omapatrilat，83)对血管紧张素转化酶(ACE)和中性内肽酶(NEP)双重抑制，产生具有相似的生理功能，所以 ACE 和 NEP 是设计抗高血压和心肌梗死药物的靶标 [54]。

82 83

12.5.4.3　同时作用于受体和酶的双功能分子

如果病理过程伴有酶活性的提高，导致更多的产物激活受体而加剧病情，可采用同时抑制酶和阻断受体活性的设计策略，产生协同作用。从酶的功能看，其反应产物与活性中心有必然的互补性，若产物又是受体的天然激动剂，与受体结合部位的识别与结合也会有互补性，换言之，酶和受体活性中心的结构相似性，构成了设计这类双靶标的根据。例如同时抑制血栓烷 A_2 合成酶和血栓烷 A_2 受体，成功地研发了防止血栓形成的药物特波格雷(terbogrel，84)[55]。毒蕈碱 M_1 受体激动剂和乙酰胆碱酯酶抑制剂都是治疗阿茨海默病的靶标，同时激动 M_1 受体并抑制胆碱酯酶的化合物，成为研制治疗老年性痴呆药物的途径。例如抗抑郁药米那普令(minaprine，85)是 M_1 受体部分激动剂和乙酰胆碱酯酶弱抑制剂，进而设计出新型的激动受体/抑制酶系的活性化合物[56]。

84　　85

12.5.4.4　同时作用于受体与转运蛋白或离子通道的双功能分子

内源性物质的受体及其转运蛋白常常是研发中枢神经系统药物的靶标，其中 5-HT_{1A} 受体拮抗剂和 5-羟色胺重摄取抑制剂被广泛用作抗抑郁药物，例如 SB-649915(86)对两个靶标的亲和力分别为 $pK_i = 9.5$ 和 8.2，而对其他靶标的作用 pK_i 均低于 6.3[57-59]。Labedipinedilol A(87)兼有α-和β1-肾上腺能受体拮抗作用和钙通道阻断活性，在结构上具有肾上腺能受体和钙通道拮抗作用的片段[60]，是抗高血压药物。

86　　87

12.5.5 双靶标分子设计的方法

研发作用于双靶标化合物的总体过程与单靶标药物没有本质区别，发现先导物可以基于知识或理性的分子设计，分析现有临床应用的药物或活性化合物的结构，通过药物化学或分子模拟方法设计新的分子；或是通过随机筛选或目标库的活性评价获得苗头或先导物。这些途径所得到的作用于双靶标的苗头物或先导物，可能有以下三种情况：①得到两个化合物 M_1 和 M_2，分别对靶标 A 和 B 有选择性活性；②得到一个化合物 M，对 A 和 B 都有选择性活性，但活性强度不同；③M 除对 A 和 B 有活性外，还对靶标 C 也有作用，因而有非选择性的“多余”的活性。对于上述不同的情况，在优化过程中，应采取不同的方略。

在①的情况下，若 M_1 和 M_2 分子没有相似性，则通过连接基(linker)将 M_1 和 M_2 连接成新的分子 M。这样得到的 M 的分子尺寸大于原来的分子，分子质量加大，而且有相当部分的原子互为多余存在，因而配体效率较低。如果 M_1 和 M_2 有相似性，则共用相似部分，用融合或并合的方式形成新的分子 M。相似的比例越大，合并而节省的原子越多，提高了配体效率，有利于改善物化和药代性质。

②的情况是对两个靶标呈现有活性，但差异较大。在优化过程中要调整活性强度和比值，使趋于合理和平衡，达到活性的和谐。要避免活性差别过大而出现治疗中的顾此失彼的后果。

对第③种情况则是去除不希望有的多余的作用，只保留所需要的靶标活性。

在优化双靶标药效学作用时，不仅要平衡对靶标的活性和比值和选择性，还要优化分子的物理化学性质和药代动力学性质。增加了限制因素，使研发的自由度减少，提高了设计的难度，往往需要在性质之间作必要的通融[61,62]。

12.5.5.1 连接型双靶标分子

连接型双靶标分子是用不同长度的连接基(L)将两个药物分子(A 和 B)连接起来，由于两个分子的药效团缺少共性，所以保留了原来分子的全部结构特征。如果连接基可化学或代谢裂解，则在体内分解成两个独立的配体分子 A 和 B，分别作用于 A 和 B 的靶标：

$$A-L-B \rightarrow A + B + (L)$$

这种可裂解的双靶标分子在体内是以等摩尔量释放，要求 A 和 B 的活性强度和药代性质相同或相近，方能达到预期的效果，如前所述，任何一个因素的较大差异，会造成药效的失衡。

如果连接基 L 是代谢稳定的不可裂解的片段，则 A－L－B 是一整体分子，能够分别与两个靶标作分子识别和结合，产生双重作用。连接基的长度及其物理化学性质与新分子的成药性关系很大，因为它决定了分子与双靶标的结合和适配程度以及化合物的物理化学性质。

1. 释放一氧化氮的非甾体抗炎药

一些传统的非甾体抗炎药抑制前列腺素的生成，伴随胃肠道黏膜的损伤，为了消除非甾体抗炎药的不良反应，分子中引入产生一氧化氮(NO)的基团。NO 是内源性调节物质，是由一氧化氮合酶催化生成，对于保护胃肠道黏膜起重要作用，其作用类似于内源性的前列腺素的效果。化合物 NCX-4016(88)是可以释放 NO 的阿司匹林，通过间羟基苄醇分别被羧基和亚硝酸酯化，在体内释放出阿司匹林和硝酸盐，后者经一氧化氮合酶转化成 NO，分别起到抗炎作用和黏膜保护作用[63]。非甾体抗炎药与产生一氧化氮的亚硝酸酯相偶联的化合物还能够抑制细胞增殖和癌预防作用[64]。一氧化氮还可启动心血管系统的分子机制，抑制血管收缩和血小板聚集以及调节白细胞在内皮细胞上的黏附[65]，因而在昔布类 COX-2 抑制剂中引入 NO 供体，可降低因过强的选择性致使前列环素减少引起的心血管事件。例如处于临床试验研究的西米昔布(cimicoxib，89)甲氧基用乙二醇连接基代替，经亚硝酸酯化得到化合物 90，仍保持对 COX-2 酶的选择性，并有较强的扩张血管作用[66]。

OCOCH$_3$　COO　CH$_2$ONO$_2$　　O O S H$_2$N　N　OCH$_3$　F　N　Cl　　O O S H$_2$N　N　O　O　NO$_2$　F　N　Cl

88　　89　　90

这是用可裂解的连接基缀合两个有效药物分子的实例，酯键连接基被血浆中酯酶水解，释放出等摩尔量的两个药物，分别作用于各自的靶标。

2. 阿片受体激动剂

化合物 91 是通过寡聚甘氨酸链连接阿片受体的两个激动剂的实例，为非裂解性的双靶标分子。那曲吲哚(naltrindole)和 ICI-199441 分别是阿片 δ 和 κ 受体激动剂，Portoghese 等变换不同长度的连接基调整两个激动剂之间的距离，表明 91 的镇痛活性强于两个单独应用的药物，由此还证明了激动阿片受体的镇痛作用是由受体的异二聚体参与的过程[67]。

91

3. 核苷类和非核苷类 HIV 逆转录酶双重抑制剂

这是作用于同一靶标但两个不同位点、非裂解性的双靶标作用的实例。HIV 逆转录酶是艾滋病毒复制过程的关键酶，长期应用核苷类药物(NRTI)如拉米夫丁或扎西他定(zalcitadine)会产生耐药性，同样，只用非核苷类药物(NNRTI)如 HEPT 类药物也会出现耐药作用。核苷类药物结合于酶活性中心，而非核苷类抑制剂结合于酶的变构位点，Pontikis 等将这两类抑制剂用长链连接基结合，得到作用于逆转录酶的两个位点的新分子 92，对 HIV 的抑制方式与原药物不同[68]。

92

4. 烷化剂与 EGFR 激酶抑制剂的结合

将含有抑制激酶的分子片段与烷化剂相结合，前者参与阻断细胞信号通路的环节，后者对癌细胞 DNA 发生烷化作用，通过两种机制抑制癌细胞的生长，降低对正常细胞的损伤。EGFR 受体激酶抑制剂与 β-氯乙氨基的烷化剂经叠氮相连接，化合物 93 在体内水解成 4-苯氨基喹唑啉和 β-氯乙基 β-偶氮乙胺，分别结合于EGFR激酶以及烷基化DNA，该化合物对EGFR的抑制作用 IC_{50}=0.0044μmol/L；对实体瘤细胞 DU145 抑制的 IC_{50}=2.6μmol/L。而盐酸氮芥对实体瘤细胞 DU145 抑制的 IC_{50}=7.6 μmol/L。图 12-7 是双靶标分子的作用过程[69]。

93

图 12-7　烷化剂与 EGFR 激酶抑制剂的作用过程

12.5.5.2　融合型分子

如果先导物 M_1 和 M_2 的药效团有部分相同的特征，可共用相同部分，使 M_1 和 M_2 融合成一个分子 M，M 仍保留了原来各自的药效团，犹似 M_1 和 M_2 直接相连。融合的位点不应干扰药效团与靶标的结合，为此，常常借助分子模拟技术，将融合部位安排在酶或受体结合腔非关键处。M 的分子质量显然低于(M_1+M_2)的分子质量，但一般高于 M_1 或 M_2，由于分子加大，有时会出现溶解性和口服利用度问题。

1. 5-羟色胺重摄取抑制剂和 5-HT_{1A} 拮抗剂——抗抑郁药物

5-羟色胺选择性重摄取抑制剂(SSRI)是治疗抑郁病的一线用药，其作用是提高 5-HT 的神经传导，但有抑制神经元的发放的副作用，抵消了部分抗抑郁效果，而且 SSRI 给药后起效慢。可同时使用 5-HT_{1A} 自调受体(autoreceptor)拮抗剂加以弥补。同时应用 5-HT_{1A} 受体拮抗剂和 SSRI 抑制剂，可提高抗抑郁效果。

Mewshaw 等将 3-哌啶烷基取代的吲哚类 SSRI 化合物 94 和芳氧乙胺类 5-HT_{1A} 拮抗剂 95 作融合性拼接，将各自的叔氮原子共用，设计合成了双重抑制剂 96。结果表明，96 对 5-HT 重摄取转运蛋白和 5-HT_{1A} 受体均有抑制作用，体外活性可达到 nmol/L 水平，但由于这类化合物还对 α_1 受体有较高的亲和力，尚需作进一步研究[70]。

5HT重摄取抑制剂 94　　5HT_{1A}受体拮抗剂 95　　5HT重摄取抑制部分 5HT_{1A}受体抑制部分 96

同样，化合物 97 具有拮抗 5-HT_{1A} 受体作用[71]，98 是 SSRI 抑制剂[72]，分析构效关系，磺酰胺片段部是必需基团，97 中的苯丁胺基用 98 中的吲哚哌啶片段代替，将黑框中的片段融合成新的分子 99，99 仍保持了原来的药效团，却节省相当大的结构片段，由单靶标作用的 97(相对分子质量 308)和 98(相对分子质量 444)，

演化成双靶标抑制剂 99 的相对分子质量为 358。99 对 5-HT_{1A} 和 SSRI 的 K_i 值分别为 0.9 nmol/L 和 1.5 nmol/L[73]。

97　　98　　99

2. 5-脂氧酶抑制剂与组胺 H_1 受体拮抗剂治疗过敏性哮喘

组胺和白三烯是引起过敏和炎症的重要介质，抑制 5-脂氧酶(5-LOX)可降低白三烯的生成。阻断组胺的介导并阻止白三烯的生成的双重抑制剂，是研制新型抗过敏性哮喘的两个环节。西替利嗪(cetirizine，100)和齐留通(zileuton，101)分别是 H_1 受体和 5-LOX 抑制剂，UCB-35440(102)融合了西替利嗪的二苯甲基哌嗪的片段和齐留通的 *N*-羟基脲药效团，对 H_1 受体的拮抗作用 K_i 110 nmol/L，对 5-LOX 抑制作用 IC_{50} = 100~180 nmol/L，可降低 LTB_4 的生成。体内试验对卵清蛋白致敏的豚鼠，灌胃 2 mg/kg 可抑制组胺诱发的支气管收缩，临床用于治疗过敏性哮喘，现处于 II 期试验阶段[74,75]。102 分子尺寸加大，生物利用度较低。

100　　101　　102

将酪氨酸激酶 bcr-abl 抑制剂伊马替尼(imatinib，103)与 DNA 烷化剂三氮嗪相结合得到化合物 104，仍保持了对激酶 bcr-abl 抑制作用，同时赋予分子对癌细胞 DNA 的损伤，104 对 abl 抑制的 IC_{50}=0.028 μmol/L，对 K562 细胞抑制的 IC_{50}=0.113 μmol/L，用于治疗慢性髓细胞白血病[76]。

103　　104

3. 奥马曲拉对 ACE 和 NEP 双重抑制

血管紧张素转化酶(ACE)是含锌的羧二肽酶，其功能是将血管紧张素 I(十肽)水解成血管紧张素 II(八肽)，后者具有强效血管收缩作用并促进醛固酮释放，使血压升高，因而 ACE 抑制剂可治疗高血压和心肌梗死。中性内肽酶(NEP)是含锌的内切酶，高表达于肾近端小管的纹缘上皮细胞，功能是降解心钠素(ANP)，后者为 28 肽，促进 cGMP 的生成，使血管舒张，抑制醛固酮，所以抑制 NEP 可降低血压。肾素-血管紧张素系统与心钠素系统对血管、钠、水和醛固酮的作用是相反的。同时抑制 ACE 和 NEP 两个酶，是设计抗高血压和心肌梗死的双重作用药物的根据。

化合物 SQ-26332(105)是含巯基的酰基二肽，具有双重抑制作用的先导物，其结构中含有卡托普利(106)的药效团，同时也有 NEP 抑制剂如消旋卡多曲(racecadotril,107)的药效团。SQ-26332 经构象限制，得到化合物 SQ-182657(108)，进而研发出对 NCE 和 NEP 有双重作用的药物奥马曲拉(omapatrilat，109)[77]。

105　　106　　107

108　　109

4. 血管紧张素受体和内皮素受体双重拮抗剂——治疗高血压和心力衰竭

血管紧张素 II (Ang-II)和内皮素 I(ET-A)具有强效血管收缩作用，这两个内源性多肽与心血管疾病关系密切，阻断这两个受体的功能是治疗高血压和心力衰竭的重要靶标。Ang-II 水平提高可促进 ET-A 的合成，而高水平的 ET-A 又可促进 Ang-II 的合成。这种正反馈的作用机制，构成了针对这两个受体设计降压药的良好靶标。依贝沙坦(irbesartan，110)为含有联苯骨架的 AT1 受体拮抗剂，K_i = 0.8 nmol/L，而对 ET-A 的抑制活性弱(K_i>10μmol/L)。另一含联苯骨架的化合物 BMS-193884(111)为 ET-A 拮抗剂，治疗心力衰竭，处于 II 期临床研究。对 ET-A 具有强抑制活性(K_i = 1.4 nmol/L)，而没有抗 AT1 受体作用(K_i>10 μmol/L)。

Murugesan 等融合依贝沙坦和 BMS-193884 共有的联苯基为骨架，接枝两个药效团于一个分子中，经优化得到化合物 112，兼有对 ET-A(K_i = 1.9 nmol/L)和 AT-1 (K_i = 10 nmol/L)的双重活性，112 结构中含有吡咯烷酮的片段是为了调节物理化学和药代动力学性质[78]。

110 111 112

然而 112 对 AT1 的活性仍达不到依贝沙坦的水平，而且对犬和猴的口服生物利用度低(F<6%~7%)，进一步优化得到化合物 113，活性分别为 AT1 K_i = 0.8 nmol/L；ET-A K_i = 9.3 nmol/L，对犬的生物利用度可达 86%[79]。

113

12.5.5.3 并合型分子

并合型分子常常是经随机筛选得到的具有双(多)重作用的化合物，分子中隐含了各个靶标的药效团，其中一些特征是共有和共用的。并合型分子也可以根据已知的活性分子 M1 和 M2 存在有相同的药效团，合并成一个连续的分子 M 而无需加入连接基。并合型分子比融合型分子更简化了分子，分子质量较小，因而是设计多靶标药物分子的理想策略。

1. α2 肾上腺能拮抗剂和 5 羟色胺重摄取抑制剂的并合——抗抑郁病药物

用随机筛选的方法，发现化合物 114 对α2 肾上腺能受体和 5 羟色胺转运蛋白(SERT)具有双重抑制作用，结构中隐含了抑制这两个靶标的药效团，但活性强度不同，对α2 受体活性较高(K_i=3.2 nmol/L)，而抑制 SERT 较弱(IC_{50} =160 nmol/L)。

以 114 为起点，并入 SERT 抑制剂帕罗西汀(paroxetine，115)的亚甲二氧苯基，形成化合物 116，116 对α2 受体的活性基本未变(K_i=6.7 nmol/L)，而对 SERT 活性增加了 7 倍(IC_{50} =21 nmol/L)。116 的亚甲二氧苯基用苯并呋喃置换，得到化合物 A-80426(117)，活性进一步提高(α2 K_i =2 nmol/L; SERT IC_{50}=13 nmol/L)，处于临床前研究阶段[80]。117 中的芳乙基具有平坦的结构，这对于两个靶标是非常重要的，并且由于共用了较大的结构片段，提高了配体效率，保障了化合物的优良物化性质。

114 115 116 117

2. 环氧合酶和 5-脂氧酶双重抑制剂

化合物 R-830(118)是含有双叔丁基羟基苯酮化合物，是根据自由基参与炎症过程、基于氧化还原原理而发现的抑制 COX 和 5-LOX 的化合物(COX: IC_{50} =0.5 μmol/L; 5-LOX: IC_{50} =20 μmol/L)，是由于双叔丁基酚基具有抗氧化和捕获自由基能力。构效关系表明，体内外抗炎活性均与存在的双叔丁基酚基有关，叔丁基对于维持体内的代谢稳定性，防止迅速的 II 相代谢非常重要[81,82]。然而 R-830 抑制 5-LOX 活性低于抑制 COX 活性 40 倍，而且水溶解度低，进一步优化发现酚基的对位允许有较大的结构变换，合成的达布非酮(darbufelone,119)不仅提高了抑制活性，也改善了物化与药代动力学性质[83, 84]。

118 119

3. 万古霉素

万古霉素为糖肽，由 7 个氨基酸组成，其作用机制是以二聚体形式与细菌胞壁黏肽中的 D-Ala-D-Ala 发生交叉连接，形成 5 个氢键网络而抑制了细胞壁的生物合成，阻止细菌生长，对处于分裂期的阳性菌起杀伤作用。胞壁黏肽的 D-Ala-D-Ala 在耐药菌株中突变为 D-Ala-D-Lac，减少了形成氢键的能力，降低了万古霉素与胞壁黏肽的静电结合作用。构效关系表明，万古霉素结构中的联苯基和二苯醚片段是抗菌活性所必需，去掉二糖基仍保持活性，提示在二糖片段处作

结构修饰不影响与 D-Ala-D-Ala 的结合。Telavancin(120)[85,86]和 oritavancin(121)[87]，分别在糖基上引入亲脂性的脂肪链和联苯基，赋予分子以膜的去极化性和增加膜通透性。所以引入新的药效团——亲脂性基团，提高了抗万古耐药菌的能力。为了平衡药代动力学的性质，在两个分子中还分别引入极性基团氨基膦酸和单糖环。120 和 121 处于临床 III 期研究阶段。

120　　121

12.5.6　双靶标药物的物理化学性质

双靶标作用的分子需要满足两个靶标对药效团的要求，所以大都用连接、融合或并合的方法将两个药效团组合成一个分子，新分子的尺寸和分子质量以及结构的复杂性往往超过原来的分子，例如双靶标药物的平均相对分子质量大于 500，$c\log P$ 大于 5，一般高于临床应用的口服药物的标准[88]，而且由于亲脂性和分子的柔性加大，溶解性和口服吸收降低，对于需要长期服用治疗慢性疾病，口服和药代动力学是不利的[89]。

设计双靶标药物分子的困难性在于限制性因素多和改造的自由度小。在药效学方面，要求分子对两个靶标具有选择性作用，不应对其他靶标有多余的活性；在作用强度上，对两个靶标应相同或相近，差别不宜过大；在药代动力学和物化性质方面，双靶标分子的药代和物化性质空间应与活性空间相互交盖，交集越多，成药的可能性越大。图 12-8 是不同类型的双靶标分子与物化/药代性质空间的相互关系的示意图。图 12-8(a)是连接型的双靶标分子，由于分子尺寸较大，与药代空间的交集较小，成药的几率较小。图 12-8(b)的融合部分是在缓冲区剪裁掉某些原子或片段，节省了一些原子，活性与物化/药代空间的交集较大，增加了成药几率。图 12-8(c)表明空间交集进一步增大，有利于成药性。药物化学的设计技巧在于准确地确定药效团，找出相同的药效团特征作为共有特征，在不影响药效团空间距离和取向的部位，剪切掉重复的不必要的原子，用化学键结合在一起。

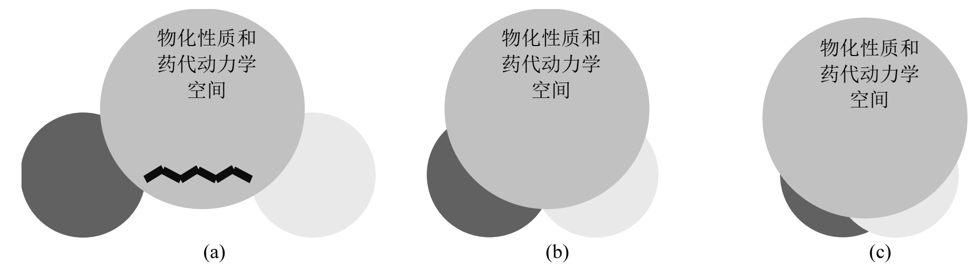


图 12-8　连接型、融合型和并合型双靶标分子与物化/药代空间的相互关系示意图

正如 Morphy 等指出，药物化学家研制双(多)靶标化合物，面临着两个难题：在生物学上，要确保靶标组合的合理性和在病理过程的顺应性，并使体外活性与体内活性协调一致；在化学上，构建的分子结构的药效学(PD)、药代动力学(PK)和物理化学性质匹配合理。和谐地整合在一起，是成功研制双(多)靶标化合物的关键所在[90]。

12.6　“老药新用”

严格地讲，“老药新用”一语不够准确，缺乏科学定义。本节借用这一语，所要讨论的内容是从已有的药物出发，创制新的药物的理念和过程。人体全部基因的解序和蛋白质组学的发展，以及研究病理状态的基因及其产物的特征，为药物研究提供了日益增多的靶标，并改变着新药研发的模式，突出地反映在近 30 年来创制的新药都是针对特定的靶标发现或设计的，因而对适应证的作用机制和靶标是明确的。但在此以前研发的药物大都是以生理学或表型评价活性而发现的，当时对于靶标和分子机制许多是不明确的，即使后来的研究证实了作用靶标，但也缺乏对药物靶标的系统试验。所以，用新的靶标筛选既有药物，可以发现新结构类型的先导物。

12.6.1　药物的杂泛性

几乎所有的药物都有副作用，究其原因，是同时作用于多靶标之故。药物同时作用于两个或多个靶标的现象称作杂泛性(promiscuity) [91]。药物的杂泛性源于靶标分子和(或)药物分子可采取不同的构象，因而一个药物以不同的分子形状和药效团分布，结合于不同的靶标。在诱导契合过程中，靶标的结合部位也改变着构象。突出的实例是细胞色素 CYP3A4 可代谢几乎 50%的药物，是由于 CYP3A4 的杂泛性可适配并代谢不同结构的化合物，例如 CYP3A4 与酮康唑(ketoconazole)和红霉素(erythromycin)的晶体结构显示，CYP3A4 的 F 和 G 环套(loops)的构象发生改变，不仅二者的构象不同，也与其他药物结合时的构象不同[92]。同时也说明

了酮康唑和红霉素的杂泛性：酮康唑的主要作用是抑制真菌的甾醇 14-α 脱甲基酶，使真菌死亡；红霉素结合于细菌核糖体 50S 亚基，阻断转肽作用，二者又都是人 CYP450 的底物，发生氧化代谢。

药物的杂泛性具有两重性，有利方面表现在，若作用的两个或多个靶标参与了某病理过程，则会产生协同作用，从而增强治疗效果。上一节讨论应用药效团的融合与并合方法设计双靶标药物，就是基于药物杂泛性的有利方面[93, 94]。还可以基于药物基因组学和结构生物学设计多药理作用的药物。杂泛性的不利之处是药物缺乏特异性作用，作用于不希望干预的靶标，以致成为药物产生副作用的根源，这是需要消除和避免的。不过，即便这样，人们还是可以利用这种不利的杂泛性，即从现有药物出发，发扬和增强原有副作用成为主作用，消除原有的主作用，研发新药，第 11 章基于临床副作用设计新药已作了叙述。本节着重讨论发掘药物对新靶标的未知和潜在作用，研发新药，因为以药物作为先导物有许多优点。Wermuth 提出的“副作用的选择性优化”(selective optimization of side activity，SOSA) 策略就是选择了有代表性的药物组成药物库，从中发现作用于新靶标的先导物 [95]。

12.6.2 药物作为发现先导物的优势

用化合物库进行高通量筛选虽然是发现苗头和先导物的途径，但投入与产出常常不成比例，主要是类药性问题。有机化合物与药物的内涵相差很大。

12.6.2.1 药物有适宜的物理化学性质

用化合物库筛选出的活性物质，往往是苗头化合物，需要将苗头改造成先导化合物(hit-to-lead)，使先导物有类药性。在这个过程中，有的苗头物不能演化成先导物，或需要经过较大的结构修饰方能成先导物，进而作先导物的优化。而用药物作为起始点，筛选出的活性物质，就是先导物，可立即进行优化，由于结构的变化不大，新化合物的物理化学性质如分子质量，溶解性，分配性等仍保持在成药性的范围。

12.6.2.2 药物有良好的药代动力学性质

药物作为初始物，已经具备良好的药代动力学性质，而且已在患者群中证实吸收、分布、代谢、排泄以及生物利用度等是适宜合理的，所以，在优化时只要注意不作巨大的变换，例如引入较大的亲脂性片段或容易代谢的功能基，仍能保持良好的药代动力学性质。

12.6.2.3　药物具有安全性

原药的安全性已被动物和患者所证实，在优化去除原来的药理作用，提升所需的活性和选择性时，要避免引入具有潜在毒性或代谢敏感性基团。

12.6.2.4　优化后的化合物结构和活性有新颖性

由于要消除原药的主作用，必然会去除某个(些)原来的药效团特征，加入了新的结构因素，因而不仅不会被原药的专利所覆盖，而且新颖的结构可以获得专利的保护。

12.6.3　举例

12.6.3.1　由磺胺噻唑发现内皮素 ET_A 受体拮抗剂——从抗菌药到治疗心衰药

施贵宝公司在用公司存放的化合物筛选对内皮素 ET_A 受体的拮抗剂时，发现抗菌药磺胺噻唑(122)有弱抑制作用(ET_A IC_{50} = 69 μmol/L)。测定其相关化合物发现磺胺二甲异噁唑(123)的活性更强(ET_A IC_{50}= 0.78 μmol/L)。系统地变换结构得到强效和选择性的化合物 BMS-182874(124)，ET_A IC_{50} = 0.15 μmol/L，是一个口服有效的长效降压药[96]。进一步优化药代动力学，用联苯基代替萘环，得到 BMS-193884(125)，ET_A K_i = 1.4 nmol/L，ET_B K_i = 18700 nmol/L [197]，在联苯环上引入酰胺侧链，得到 BMS-207940(126)，ET_A K_i = 10 pmol/L，ET_B 的作用为其 8 万倍。大鼠的口服生物利用度为 100%，口服 3 mg/kg 即呈现活性。

122　　123　　124

125　　126

12.6.3.2 由磺胺化合物发现 5-HT$_{6A}$ 受体拮抗剂——从抗菌药到提高认知能力药物

5-羟色胺能受体在神经系统中的作用是与认知功能和感觉行为有关，大鼠给针对 5-HT$_6$ 受体的 m-RNA 的反义寡核苷酸，可引起剂量依赖性的扭体、呵欠和咀嚼等生理反应，推论 5-HT$_6$ 受体具有调节胆碱能神经传导的功能。对 5-HT$_6$ 受体呈拮抗作用的物质可提高大鼠的认知能力，改善记忆力和空间学习能力，因而能够对神经精神性疾病如阿茨海默和精神分裂症引起的认知障碍有治疗作用，此外还有抗肥胖和焦虑作用。经药物库筛选，发现磺胺类抗菌药 Ro-046709(127)和 Ro-630563(128)对 5-HT$_6$ 呈现拮抗作用，与受体亲和力 K_i 分别为 46.8 nmol/L 和 12 nmol/L。循此路径，史克公司筛选出含有苯磺胺基的骨架，苯环对位没有伯氨基，消除磺胺药物抑制叶酸合成酶和抗菌作用，得到 SB-214111(129)，活性为 pK_i=8.3，进而合成了不同的芳环替换苯环的化合物，发现苯并噻吩类似物(130) pK_i=9.2，虽亲和力很高，但在体内发生 *N*-去甲基化，合成的去甲基化合物 SB-271046(131)，对 5-HT$_6$ 的 pK_i=8.9，后者处于临床研究，治疗由于精神分裂引起的认知障碍[98,99]。

127　　128

129　　130　　131

12.6.3.3 由双氯芬酸发现甲状腺激素结合蛋白抑制剂

甲状腺激素结合蛋白(transthyretin，TTR)为含有四个相同的β片层四聚体，分布在血液和脊髓液中，其功能是运载甲状腺素，也是维生素 A 与结合蛋白复合物的唯一转运蛋白。在酸性环境中(如细胞器和溶酶体中)，TTR 解聚，单体重新折叠并聚合成淀粉样蛋白纤维，发生老年全身性淀粉样变性病(senile systemic amyloidosis)和家族性淀粉样心肌病(familial amyloid cardiomyopathy)。二芳胺类尤其是双氯芬酸(diclofenac，132)抑制 TTR 的功能[100]，因而双氯芬酸可作为研制 TTR 淀粉样变性病药物的先导物。根据双氯芬酸与 TTR 复合物的晶体结构和结合模

式，设计合成了一系列含羧基的二苯胺化合物，其中化合物 133 和 134 对野生型和突变型 TTR 的抑制活性均强于双氯芬酸[101]。

132　　133　　134

12.6.3.4　由地西泮发现磷酸二酯酶 4 抑制剂——从安定药研制抗哮喘药物

磷酸二酯酶-4(PDE4)的功能是水解细胞内 cAMP 成 AMP 的特异性酶，主要存在于呼吸道平滑肌的免疫和炎症细胞中，PDE4 是研制抗过敏和抗炎药物的重要靶标，治疗慢性阻塞性肺病(COPD)。体外筛选对 PDE4 的抑制作用中，发现苯并二氮䓬化合物 137 有一定的活性，经 3 位芳酸酰化，优化出化合物 PD-0190749 (138)对 PDE4 有强抑制活性，对大鼠哮喘模型灌胃 ED_{50}=5.1 mg/kg，静脉注射 3 mg/kg 未引起呕吐(PDE4 抑制剂的主要的副作用) [102]。进而改变杂环和 9 位的基团取代，得到 CI-1018(137)和 CI-1044(138)活性进一步提高，138 的灌胃 ED_{50}=3.2 mg/kg，未出现呕吐的副作用[103]。

135　　136

137　　138

12.6.3.5　由米那普令发现多种药物的先导物

Wermuth 等应用 SOSA 策略研发新药，有代表性的实例是由抗抑郁药米那普

令(minaprine，139)出发，发现多种靶标的活性化合物。米那普令是 5-羟色胺和多巴胺重摄取抑制剂，虽然最终未成为抗抑郁药上市，但具有多方面的类药性质。研究发现，米那普令具有微弱的毒蕈碱 M_1 受体的活性，亲和力 K_i=17 μmol/L，有可能优化成胆碱能受体激动剂。杂环上甲基移位，化合物 140 的活性 K_i=0.55 μmol/L。吗啉环变换为托品烷环，化合物 141 活性提高 10 倍，K_i=0.05 μmol/L。苯环引入邻位羟基(142)，K_i= 3 nmol/L [104,105]。

139 140

141 142

另一个思路是研究阿茨海默病治疗药物胆碱酯酶抑制剂。乙酰胆碱受体与胆碱酯酶都是以乙酰胆碱为底物，在受体激动剂和酶抑制剂之间的结构应有相似之处，又以米那普令为先导物设计胆碱酯酶抑制剂，经筛选对大鼠纹状体匀浆胆碱酯酶的 IC_{50}=85 μmol/L，去除哒嗪环上甲基，改变吗啉环为哌啶环，得到化合物 143，对胆碱酯酶的抑制活性 IC_{50}=13 μmol/L，进而延长侧链并增加亲脂性，化合物 144 的 IC_{50} 为 1.9 μmol/L。再参照胆碱酯酶抑制剂多奈哌齐(donepezil，146)的侧链，合成的化合物 145，IC_{50} 提高到 0.12 μmol/L (对电鳗胆碱酯酶)，抑制活性比米那普令提高了 5000 倍[106]。

139 143

144 145

146

以化合物 144 为先导物作进一步优化，在哒嗪 C-5 位引入亲脂基团有利于抑制乙酰胆碱酯酶，并降低了对丁酰胆碱酯酶的活性(提高了 AChE/BuChE 选择性)，化合物 147 的 IC_{50}=21 nmol/L；苯基的 6 位取代对活性影响不大，因而合成了茚并哒嗪化合物 148，IC_{50}=10 nmol/L，比 145 的活性强 11 倍。化合物 148 抑制人 BuChE/AChE 比值为 24，高于他克林的选择性[107]。

144　　147　　148

12.7　基于片段的药物设计

以靶标为核心的新药研发模式，切入点往往是用离体的酶或受体评价化合物的结合能力(K_i，IC_{50} 或 EC_{50})，选择高亲和作用的分子遴选为苗头(hit)或先导物(lead)。虽然筛选的化合物尽量满足类药性(例如高通量筛选方法)，但将苗头转化为先导物(hit-to-lead)或先导物优化时往往遇到困难，主要由于过分关注活性而分子偏大，忽视物理化学性质和潜在的药代性质，导致溶解性差，难以过膜，生物利用度低，以及代谢稳定性差等[108]。类药化合物的分子质量偏大，亲脂性强，致使优化的化学空间狭窄。这是因为在演化或优化先导物时，药物化学家往往加入基团或片段，旨在增加与靶标结合的机会和强度，“不敢”去除基团或片段，以免丢失参与结合的原子或基团(即药效团)，这样导致物化和药代性质的不适[109]。因此，先导物的选择与优化，只靠活性强度不顾及物化性质是有失偏颇的。

12.7.1　分子大小是衡量苗头和先导物质量的重要尺度

审视药物研发的总体过程，药物的物化性质、药代、药效和安全性均不可或缺。在研发初期，先导物要尽量植根于这些多元化性质上，高活性不应是唯一指标。人们常常忽视分子的大小，将较大的分子作为先导化合物，这往往要付出牺牲药代和物化性质的代价。吸收性、代谢稳定性和溶解性的降低，抵消了活性，削弱了药物的效力(efficacy)。

过去 30 年一些制药公司进行临床研究的候选药物分子质量在不断地增高，这

种趋势是高通量筛选(HTS)或基于受体结构的分子设计(SBDD)方法研发新药的共同特点。即使如此，被批准上市的药物，分子质量并没有明显增加。Wenlock 等系统地分析了 1985~2000 年进入和中止于临床各期以及上市的药物，表明上市的口服药物与处于 I 期临床研究的分子质量分布有明显的不同，上市的药物相对分子质量主要分布于 200~450，而 I 期临床分子质量分布是杂乱的，而且高分子质量的化合物出现频率较大，说明尽管在先导物优化中分子质量逐渐加大，但最终被批准的药物，分子质量仍属偏低者[110]。

12.7.2 从低分子质量入手

10 多年来，药物化学家采用了另一策略，即从低分子质量化合物筛选苗头分子。低分子质量的化合物可认为是构成目标分子的一个片段，是演化和优化先导物的起始点，既包含了目标分子的药效团某个(些)特征，也构成了分子的部分骨架，尽管活性很低，但借助与受体结合的结构特征，指导添加或连接有助于增高活性的基团或片段，同时控制分子的大小，以形成有成药前景的化合物。这种技术称作基于片段的药物设计(fragment-based drug design，SBDD)。片段化合物入围苗头物，演化成先导物，以及优化过程，需要有参数跟踪，以指导上述的操作，这个参数称作配体效率。

12.7.3 配体效率

衡量苗头物或先导物以及优化的化合物的质量，不应只限于活性的绝对强度，还要分析组成分子的原子对活性的贡献，即配体效率(ligand efficiency，LE)。配体效率系指配体中每个原子对受体结合的贡献，这是选取先导物和评判优化过程中有用的参数[111]。

配体效率整合了 Andrews 用统计学方法计算的功能基的结合能[112]和 Kuntz 关于分子中原子对结合能的贡献[113]。Andrews 分析了 200 个药物和酶抑制剂的结合常数与结构的关系，得出了 10 个常见的功能基和原子对结合能的贡献均值。表 12-4 的数值表明，带电荷的基团对与受体结合的贡献强于极性基团，极性基团又强于非极性基团。

表 12-4 原子或基团对结合能的贡献

	带电荷基团			极性基团					非极性基团	
功能基	N^+	PO_4^{2-}	CO_2^-	CO	OH	卤素	N	O,S 醚	$C(sp^3)$	$C(sp^2)$
结合能*	11.5	10.0	8.2	3.4	2.5	1.3	1.2	1.1	0.8	0.7

*单位为 kcal/mol。

Kuntz 等分析大约 150 个含有 1~67 个原子构成的离子或化合物与受体的结合常数，按照式(12-1)计算了结合常数与系统自由能变化的关系，进而推定出每个原子对结合的贡献。

$$\Delta\Delta G_{\text{结合}}=\Delta\Delta G_{\text{复合物}}-\Delta\Delta G_{\text{参比态}}=-RT\ln K \tag{12-1}$$

结果表明，当非氢原子数在 15 个以内，结合能随原子数的增加而线性增高，平均每个原子的贡献为 1.5 kcal/mol；超过 15 个原子后结合能的变化趋于不变，成为非线性变化，这种现象归因为非热力学因素。Andrews 和 Kuntz 的研究为配体效率概念奠定了基础。

配体效率是由 Hopkins 等提出[114]，目的是优化活性时监督分子的大小，计算方法是将复合物结合常数 K_d 或 IC_{50} 等转换为结合自由能(ΔG)。在 300K 温度下，自由能与结合常数的关系如式(12-2)所示，ΔG 单位是 kcal/mol。

$$\Delta G = 1.37\ \mathrm{p}K_d \tag{12-2}$$

每个原子的自由能贡献即配体效率用式(12-3)表示：

$$\mathrm{LE} = \Delta G/N_{\text{非氢原子}} \tag{12-3}$$

式中，$N_{\text{非氢原子}}$代表非氢原子的数目，LE 的单位是 kcal/mol。结合自由能与离解常数间成对数关系，若 ΔG 改变 1.37 kcal/mol，结合强度变化 10 倍。

大多数活性化合物的配体效率低于所有原子亲和力的总和，说明结构中相当一些原子或基团是多余的，是不必要的。所以，通过简单的计算就可以确定对某一靶标的有效化合物最起码的配体效率。例如优化过程中某化合物含 41 个非氢原子(相对分子质量大约为 540，非氢原子的平均相对原子质量为 13.5)，当 K_d=10 nmol/L，LE＝0.27 kcal/ mol。而含有 30 个非氢原子的化合物，若 K_d =10 nmol/L，其 LE=0.37 kcal/ mol。

配体效率是将化合物的活性加入分子大小的尺度加以表征，是优化过程中监测化合物的活性、物化性质和成药性程度的一个指标。配体效率还可用分子质量或极性表面积(PSA)的尺度进行计算[115]。一些制药公司还采用配体-亲脂性效率[116] (ligand-lipophilicity efficiency，LLE)表征先导物和优化的质量。LLE 的定义是 $\mathrm{p}IC_{50}$ (或 $\mathrm{p}K_i$) – $c\log P$ (或 $\log D$)。

12.7.4　基于片段的药物设计

基于片段的药物设计是用生物物理方法寻找对某靶标有结合作用的片段，虽然由于片段的分子小而简单，与靶标的结合力弱，但在靶标活性部位的结合效率

高，因而是优化设计的良好起点，而且在结构修饰上有较大的空间。

最早应用 FBDD 方法的是用核磁共振研究 FKBP 抑制剂，称作 SAR by NMR[117]。该方法是用 ^{15}N 标记的 FKBP 蛋白筛选片段库的结合作用，观察和确定酰胺键的 ^{15}N-或 ^{1}H 化学位移的变化。确定苗头化合物后，再筛选其类似物，得到有弱结合作用的化合物如 149(K_d=2μmol/L)。然后是设想在该位点附近有第二个结合腔，为此观测另一组酰胺键的化学位移变化，从而可大致确定出第二个配体的结合位置。再筛选后者的类似物，得到第二个苗头物 150(K_d=100μmol/L)。然后用核磁共振或 X 射线晶体衍射方法，确定优选出的这两个苗头小分子与受体蛋白结合的取向和位置。最后根据这些结构信息合成出将这两个片段结合在一起的化合物 151，151 与 FKBP 有高亲和力，K_d=49 nmol/L。

	149	150	151
K_d	2 μmol/L	100 μmol/L	49 nmol/L
非氢原子数	26	17	45
LE/(kcal/mol)	0.30	0.32	0.22
FQ	0.79	0.64	1.06

用片段分子筛选需要有灵敏的监测手段，例如除用 NMR[118]方法外还可用 X 射线晶体衍射法[119]、表面等离子共振技术[120]、生化测定的方法[121]以及质谱方法[122]等生物物理和生物化学方法。

12.7.5　片段分子的特征和片段库

用于高通量筛选的化合物多为类药性分子(drug-like)，大都遵循类药 5 原则。FBDD 筛选的化合物是分子小结构简单的类先导物(lead-like)，片段库分子一般特征为：①有相当范围的物理化学性质；②分子多样性；③有水溶解性；④化学修饰可行性；⑤是药物化学中优势结构或骨架；⑥相对分子质量低于 300；⑦$c\log P$ 低于 3；⑧氢键的给体、接受体和柔性键不多于 3[123]。其中，片段的水溶性非常重要，以适应高浓度下的检测，因为片段与靶标的结合常数通常在数百 μmol 到 mmol 的范围内。

片段需要有特异性结合，作为 hit-to-lead 和优化的起点，既是以后先导物(或优化的分子)的结构骨架，也构成了药效团的特征，同时也需要有扩展结构的反应功能基。发现了片段分子后，结构优化除伴随有结构生物学的指导外，与传统的药物化学方法没有本质区别。

图 12-9 列举了文献报道的用于 FBDD 的有代表性片段分子。

图 12-9　用于 FBDD 的有代表性的片段分子

用于FBDD的商用片段库已不下10个，库容量大约数千个化合物，虽然远低于HTS的库容量，但在小分子质量化合物空间中所占的比例远远大于HTS的上百万个样本在类药分子空间中所占的比例，因而，FBDD的命中率相对较高[124]。

12.7.6　举例

12.7.6.1　极光激酶抑制剂

极光激酶(aurora kinase)调节细胞有丝分裂起关键作用，是抗癌药物的靶标。最初发现吡唑基苯并咪唑(152)是周期素依赖的激酶(CDK)的抑制剂，用酶浸泡技术发现该化合物可结合极光激酶 A，X 射线晶体学研究表明，该化合物结合于激酶深部的 ATP 结合位点。进而发现苯甲酰氨基化合物(153)活性更强，因为占据了一个疏水腔。为了同时提高对于 aurora B 的抑制作用，在苯并咪唑的 5 位引入吗啉环，化合物 154 提高了对 aurora A 和 B 的抑制活性。该化合物的小鼠药代动力学性质为：Cl =43 mL/(min·kg)，F= 26%，而血浆蛋白结合率过高(99.5%)。为了全面优化药效和药代性质，分析该化合物的晶体结构，发现氟代苯基并未完全适配于结合腔内，在不增加分子质量和 $c\log P$ 的原则下，保持分子骨架和药效团不

变，将苯甲酰胺基变换成环丙脲基，化合物 155 的药效和药代性质均明显优化，以代号为 AT9283 进行 I 期临床研究[125]。

	152	153	154	155
IC_{50}/(μmol/L)	0.091	0.070	0.010	0.003
LE	0.50	0.49	0.35	0.42
FQ	1.09	1.18	1.07	1.17

12.7.6.2　蛋白激酶 B 抑制剂

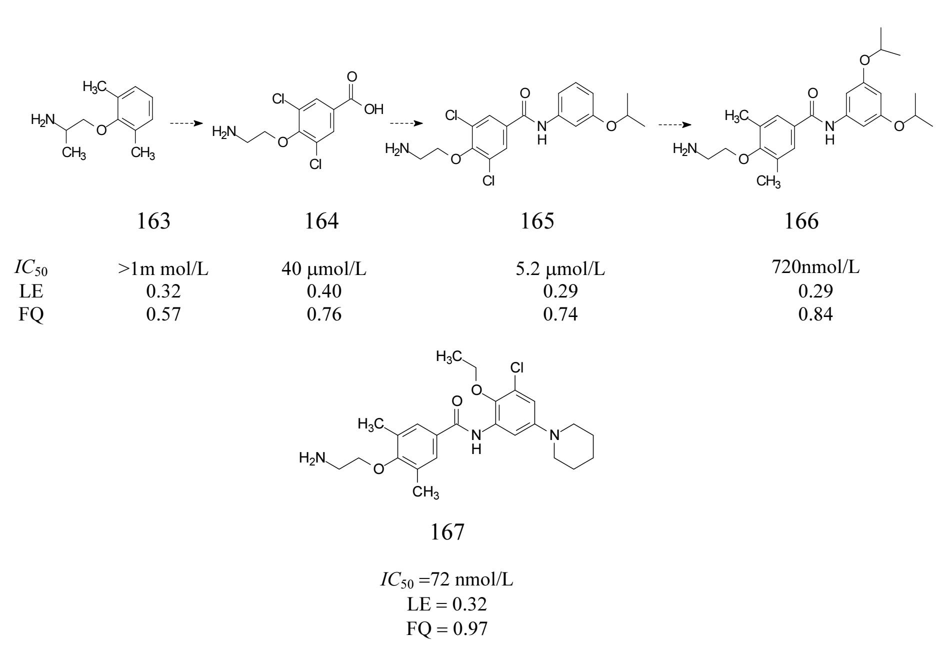
研究蛋白激酶B(PKB)抑制剂，发现化合物156有弱抑制活性(IC_{50}=80μmol/L)，但只有 11 个非氢原子，故有较高的配体效率(LE=0.47)，优化结构要求化合物的配体效率保持在 0.30 以上。基于 PKB 与化合物 156 晶体的三维结构特征，发现在苯环对位的结合部位有负性基团和较大的腔穴，因而合成了含有碱性基团的 157 和 158，增强了活性，虽分子质量增大，但仍保持了 LE 值。加入新的苯环，化合物 159 和 160 仍维持了相同的配体效率，最后在新的苯环上引入卤素，得到高活性的 161 和 162，在演化过程中，契合质量不断攀升[126]。

	156	157	158	159	160	161	162
IC_{50}/(μmol/L)	80	12	3.0	0.51	0.20	0.031	0.018
LE	0.47	0.48	0.61	0.43	0.40	0.49	0.44
FQ	0.82	0.91	1.16	0.95	0.96	1.11	1.09

12.7.6.3　尿激酶型纤维蛋白溶酶原活化抑制剂

尿激酶型纤维蛋白酶原激活剂(uPA)与其受体(uPAR)结合，可催化裂解纤维蛋白酶原的Arg/Val酰胺键生成纤维蛋白酶，后者负责许多蛋白的水解过程，降解胞

内基质的多种成分，引发细胞的迁移，所以，uPA介导了许多病理过程如主动脉瘤、多发性硬化症和癌转移等。抑制uPA的作用可望治疗这些疾病。筛选小分子弱碱性药物美西律(mexiletine，163)对uPA的抑制作用IC_{50}>1 mmol/L，且只有R构型与酶结合，163与uPA复合物的晶体衍射表明，伯氨基与Asp189的羧基、Ser190的羰基以及Gly219形成氢键，苯基与亚乙基与S1疏水强结合。美西律虽配体效率只有0.32，但水溶性很好，且口服生物利用度F=90%，pK_a=9.2，碱性不像既有的uPA抑制剂过强，故是良好的起始物。根据萘脒具有活性说明苯环的对位可引入基团如羧基，去掉侧链甲基以消除手性原子，将2,6-二甲基换成二氯，化合物164的活性IC_{50}＝40 μmol/L，在晶体结构的引导下，酰苯胺165的 IC_{50}=5.2 μmol/L，166的IC_{50}=720 nmol/L，最后经SAR设计合成的167活性提高10倍，IC_{50}=72 nmol/L。167对大鼠具有良好药代动力学性质，半衰期$t_{1/2}$=7.5 h，F =60%[127]。



12.7.6.4　依赖周期蛋白的激酶抑制剂

依赖周期蛋白的激酶(cyclin-dependent kinase，CDK)属于丝/苏氨酸蛋白家族的激酶，该酶是细胞周期的关键因子，CDK 的活性取决于周期蛋白的水平，抑制 CDK2 是设计抗肿瘤药物的一个重要环节。将片段分子四个一组与 CDK2 蛋白结晶浸渍，筛选苗头分子，发现了吲唑(168)有弱结合活性，IC_{50}=185 μmol/L，两个氮原子分别作为氢键给体和接受体与 Glu81 的羰基和 Leu83 的 NH 形成氢键。复

合物晶体结构表明，吲唑的 3 位和 5 位是发展结构的位点。化合物 169 是在吲唑 3 位加入苯胺片段，特别是苯环的 4 位引入氨磺酰基成化合物 170，增加了氢键结合作用，活性大幅提升。另一研究思路仍以 168 为起始物，去除苯并片段，吡唑 3 位引入酰胺苯基为 171，4 位连接可供修饰和连接的氨基得到 172，活性提高 1 倍。经乙酰化得到化合物 173，活性提高 10 倍，LE 和 FQ 均明显增高。晶体学表明，乙酰基经结构水分子的介导与酶分子的 Asp145 形成氢键，且两个酰胺基之间的分子内氢键有利于 173 契合于狭窄的腔内。

168 IC_{50}=185 μmol/L LE=0.57 FQ=0.91

169 IC_{50}=3 μmol/L LE=0.42 FQ=0.87

170 IC_{50}=0.66 μmol/L LE=0.38 FQ=0.89

171 IC_{50}=97 μmol/L LE=0.39 FQ=0.72

172 IC_{50}=85 μmol/L LE=0.35 FQ=0.68

173 IC_{50}=0.85 μmol/L LE=0.44 FQ=0.94

化合物 173 的乙酰基用 2,6-二氟苯甲酰基替换，得到 174 的显著提高了活性，然而 174 的穿越细胞膜的能力弱，可能是形成的分子内氢键使实测的 log *P* 值明显高于 *c* log *P*(2.4)2 个单位。变换右侧的苯环成脂环，特别是哌啶环，质子化的氮原子与酶的 Asp86 形成氢键，化合物 175 活性增高，进一步优化 175，得到 176，改善了体内活性和药代，代号为 AT 7529，现处于临床研究[128]。

174 IC_{50}=0.003 μmol/L LE=0.45 FQ=1.18

175 IC_{50}=0.14 μmol/L LE=0.31 FQ=0.79

176 IC_{50}=0.047 μmol/L LE=0.40 FQ=1.02

12.7.6.5 B-Raf 激酶抑制剂

braf 基因产物 B-Raf 激酶的生理功能是调控细胞生长和信号转导，介导细胞的生长和凋亡。在许多肿瘤中 *braf* 发生变异(例如 V600E 突变体)，是化疗失败的重要原因，因而 B-Raf 激酶是研发抗肿瘤药物的靶标。Tsai 等用两万个相对分子质量为 150~350 的片段库以 200 μmol/L 浓度筛选多种结构明确的激酶，其中 238 个化合物对 Pim-1、p38 和 CSK 三种激酶的抑制率 30%以上，分别与这三个酶共结晶，解析了 100 个化合物的复合物结构，发现 7-氮杂吲哚(176)虽结合于 Pim-1

的 ATP 结合位点，但于其他激酶的结合模式不同。进而设计单取代氮杂吲哚，其中 3-氨苯基氮杂吲哚(177)对 Pim-1 抑制的 IC_{50}＝100 μmol/L，进一步优化活性强度和选择性，合成了 3-, 4-,和 5-单或双取代的 7-氮杂吲哚，发现二氟代磺酰胺苯化合物(178，化合物代号 PLX4720)对 B-RAf V600E 有强效选择性抑制作用[129]，成为高质量的先导物。

	176	177	178
IC_{50}	200μmol/L(Pim-1)	100μmol/L(Pim-1)	13nmol/L(B-Raf)
LE	0.56	0.36	0.40
FQ	1.10	0.67	1.08

12.7.7　结语

在发现苗头和先导物的早期研究阶段，同时关注分子的物化性质和活性，以降低新药研发链中各个环节上的风险率，已经成为业界之共识。基于片段的药物设计，辅以配体效率的“监督”，已在国外许多药厂和大学蓬勃展开，大有超过高通量筛选的势头。应用 FBDD 的 13 年来，已有一批候选药物进入临床试验阶段[124]。这种研发策略，涉及了分子药理学、结构生物学、分子模拟、化学合成和药物化学等多种学科和技术，整合性很强。在我国，尚未发现采用该方法的研究报道。本节之目的在于呼唤和催生 FBDD 在我国的实施。

参 考 文 献

[1] Proudfoot J R. Drugs, leads, and drug-likeness: an analysis of some recently launched drugs. Bioorg Med Chem Lett, 2002, 12: 1647-1650

[2] Baxter A, Bennion C, Bent J, et al. Hit-to-Lead: The discovery of potent, orally bioactive triazolethiol CXCR2 receptor antagonists. Bioorg Med Chem Lett, 2003, 13: 2625-2628

[3] Flower D R. Molecular informatics: sharpening drug design’s cutting edge. Drug Design. 2002, p1-52

[4] Pidgeon C, Ong S, Liu H, et al. IAM chromatography: An *in vitro* screen for predicting drug membrane permeability. J Med Chem, 1995, 38: 590-594

[5] Marrink S J, Jähnig F, Berendsen H J, et al. Proton transport across transient single-file water pores in a lipid membrane studied by molecular dynamics simulations. Biophys J, 1996, 71: 632-647

[6] Oprea T, Davis A M, Teaque S J, et al. Is there a difference between leads and drugs? J Chem

Inf Comput Sci, 2001, 41: 1308-1315

[7] Mcgovern S L, Caselli E, Grigorieff N, et al. A common mechanism underlying promiscuous inhibitors from virtual and high-thoughput screening. J Med Chem, 2002, 45: 1712-1722

[8] Ertl P, Rohde B, and Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. J Med Chem, 2000, 43: 3714-3717

[9] Kelder J, Gootenhuis P D J, Bayada D M, et al. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. Pharm Res, 1999, 16: 1514-1519

[10] Guo Y S, Chu F M, Guo Z R. Using distance comparison method to build pharmacophore model of epidermal growth factor receptor inhibtor. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2004, 26: 379-384

[11] Muegge L, Heald S L, Brittelli D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. J Med Chem, 2001, 44: 1841-1846

[12] King F D. Strategy and tactics in drug discovery. Medicinal Chemistry, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2002,327-356

[13] Hopkins A L, Mason J S, Overington J P. Can we rationally design promiscuous drugs? Cur Opin Struct Biol, 2006, 16: 127-136

[14] Istvan E S, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. Science, 2001, 292: 1160-1164

[15] Pfefferkorn J A, Choi C H, Song Y T, et al. Design and synthesis of novel conformationally restricted HMG-CoA reductase inhibitors. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 4531-4537

[16] Evans B E, Rittle K E, Bock M G, et al. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecyctokinin antagonists. J Med Chem, 1988, 31: 2235-2246

[17] Bemis G W, Murcko M A. The properties of known Drugs.1. Molecular frameworks. J Med Chem, 1996, 39: 2887-2893

[18] 郭宗儒. 药物分子设计. 北京: 科学出版社, 2005, 384-435

[19] Ghose A K, Herbertz T, Salvino J M, et al. Knowledge-based chemoinformatic approaches to drug discovery. Drug Discov Today, 2006, 11: 1107-1114

[20] Lloid D G, Buenemann C L, Todorov N P, et al. Scaffold popping in de novo design. Ligand generation in the absence of receptor information. J Med Chem, 2004, 47: 493-496

[21] Schneider G, Neidhart W, Giller T, et al. “Scaffold-hopping” by topological pharmacophore search: a contribution to virtual screening. Angew Chem Int Ed Engl, 1999, 38: 2894-2896

[22] Boehm H J, Flohr A, Stahl M. Scaffold hopping. Drug Discov Today: Technol. 2004, 1: 217-224

[23] Nussbaumer P, Winiski A P, Cammisuli S, et al. Novel antiproliferative agents derived from lavendustin A. J Med Chem, 1994, 37: 4079-4084

[24] Zheng X Z, Hodgetts K J, Brielmann H, et al. From arylureas to biarylamides to aminoquinazolines: Discovery of a novel, potent TRPV1 antagonist. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 5217-5221

[25] Deng W, Guo Z R, Guo Y S, et al. Acryloylamino-salicylanilides as EGFR PTK inhibitors. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 469-472

[26] Adachi K, Kohara, T, Nakao N, et al. Design, synthesis, and structure activity relationships of 2-substituted-2-amino-1,3-propanediols: Discovery of a novel immunosuppressant, FTY 720. Bioorg Med Chem Lett, 1995, 5: 853-856

[27] Kiuchi M, Adachi K, Tomatsu A, et al. Asymmetric synthesis and biological evaluation of the enantiomeric isomers of the immunosuppressive FTY720-phosphate. Bioorg Med Chem, 2005, 13: 425-432

[28] Hale J J, Lynch C L, Neway W, et al. A rational utilization of high-throughput screening affords selective, orally bioavailable 1-benzyl-3-carboxyazetidine sphingosine-1-phosphate-1 receptor agonists. J Med Chem, 2004, 47: 6662-6665

[29] Yan L, Hale J J, Lynch C L, et al. Design and synthesis of conformationally constrained 3-(*N*-alkylamino)propylphosphonic acids as potent agonists of sphingosine-1-phosphate (S1P) receptors. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14: 4861-4866

[30] Shimizu H, Takahashi M, Kaneko T, et al. KRP-203, a novel synthetic immunosuppressant, prolongs graft wurvival and attenuates chronic rejection in rat skin and heart allografts. Circulation, 2005;111:222-229

[31] Finnin M S, Donigian J R, Cihen A, et al. Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. Nature, 1999, 401: 188-193

[32] Stowell J C, Huot R I, van Voast L. The synthesis of N-hydroxy-N'-phenyloctanediamide and its inhibitory effect on proliferation of AXC rat prostate cancer cells. J Med Chem, 1995, 38: 1411-1413

[33] Suziki T, Ando T, Tsuchiya K, et al. Synthesis and histone deacetylase inhibitory activity of new benzamide derivatives. J Med Chem, 1999, 42: 3001-3003

[34] Plumb J A, Finn P W, Williams R J, et al. Pharmacodynamic response and inhibition of growth of human tumor xenografts by the novel histone deacetylase inhibitor PXD101. Mol Cancer Ther. 2003, 2: 721-728

[35] Vaninni A, Volapri C, Filocamo G, et al. Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC8, complexed with a hydroxamic acid inhibitor. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 15064-15069

[36] Charrier C, Roche J, Gessona J P, et al. Antiproliferative activities of a library of hybrids between indanones and HDAC inhibitor SAHA and MS-275 analogues. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 6142-6146

[37] Celanire S, Wijtmans M, Talaga P, et al. Histamine H3 receptor antagonists reach out for the clinic. Drug Discovery Today, 2005, 10: 1613-1627

[38] Peschke B, Bak S, Hohlweg R, et al. Cinnamic amides of (*S*)-2-(aminomethyl)pyrrolidines are potent H3 antagonists. Bioorg Med Chem, 2004, 12: 2603-2616

[39] Lau J F, Jeppesen C B, Rimvall K, et al. Ureas with histamine H3-antagonist receptor activeity—A new scaffold discovered by lead-hopping from cinnamic acid amides. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16: 5303-5308

[40] Wood M R, Schirripa K, Kim J J, et al. Cyclopropylamino acid amide as a pharmacophoric replacement for 2,3-diaminopyridine. Application to the design of novel bradykinin B1 receptor antagonists. J Med Chem, 2006, 49: 1231-1234
[41] Pfefferkorn J A, Choi C, Song Y, et al. Design and synthesis of novel, conformationally restricted HMG-CoA reductase inhibitors. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 4531-4537
[42] Salem E A, Kendirci M, Hellstrom W J G, et al. Drug evaluation:Udenafil, a longacting PDE5 inhibitor for erectile dynsfunction. Curr Opinion Investig Drugs, 2006, 7: 661-669
[43] Tsujihara K, Hongu M, Saito, K, et al. Na^+-glucose contransporter (SGLT) inhib itors as antidiabetic agents. 4. Synthesis and pharmacological properties of 4'-dehydroxyp hlorizin derivatives substituted on the B ring. J Med Chem, 1999, 42: 5311-5324
[44] Katsuno K, Fujimori Y, Takemura Y, et al. Sergliflozin, a novel selective inhibitor of low-affinity sodium glucose cotransporter (SGLT2), validates the critical role of SGLT2 in renal glucose reabsorption and modulates plasma glucose level. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 320: 323-330
[45] Meng W, Ellsworth B A, Alexandra A, et al. Discovery of dapagliflozin: a potent, selective renal sodium-dependent glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. J Med Chem, 2008, 51: 1145-1149
[46] Rothman R B, Baumann M H, Savage J E, et al. Evidence for possible involvement of 5-HT(2B) receptors in the cardiac valvulopathy associated with fenfluramine and other serotonergic medications. Circulation, 2000, 102: 2836-2841
[47] Smith B M, Smith J M, Tsai J H, et al. Discovery and structure−activity relationship of (1R)-8-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-1-methyl-1H-3-benzazepine (Lorcaserin), a selective serotonin 5-HT_{2C} receptor agonist for the treatment of obesity. J Med Chem, 2008, 51: 305-313
[48] Frantz S. Drug discovery: playing dirty. Nature, 2005, 437: 942-943
[49] Overington J P, Al-Lazikani B, Hopkins A L. How many drug targets are there? Nat Rev Drug Discov, 2006, 5: 993-996
[50] Moore N A, Calligaro D O, Wong D T, et al. The pharmacology of olanzapine and other new antipsychotic agents. Curr Opin Invest Drugs, 1993, 2: 281-293
[51] Borisy A A, Elliott P J, Hurst N W, et al. Systematic discovery of multicomponent therapeutics. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 7977-7982
[52] Zimmermman G R, Lehar J, Keith C T. Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts. Drug Discov Today, 2007, 12: 34-42
[53] Daub H, Specht K, Ullrich A. Strategies to overcome resistance to targeted protein kinase inhibitors. Nat Rev Drug Discovery, 2004, 12: 1001-1010
[54] Robl J A, Sun C Q, Stevenson J, et al. Dual metalloprotease inhibitors: mercaptoacetyl-based fused heterocyclic dipeptide mimetics as inhibitors of angiotensin-converting enzyme and neutral endopeptidase. J Med Chem, 1997, 40: 1570-1577
[55] Soyka R, Guth B D, Weisenberger M H, et al. Guanidine derivatives as combined thromboxane A2 receptor antagonists and synthase inhibitors. J Med Chem, 1999, 42: 1235-1249
[56] Contreras J M, Parrot I, Sippl W, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationships of

a series of 3-[2-(1-benzylpyridin-4-yl)ethylamino] pyridazine derivatives as acetylcholinerase inhibitors. J Med Chem, 2001, 44: 2707-2718

[57] Atkinson P J, Bromidge S M, Duxon M S, et al. 3,4-Dihydro-2H-benzoxazinones are 5-HT(1A) receptor antagonists with potent 5-HT reuptake inhibitory activity. Bioorg Med Chem Lett, 2005, 15: 737-741

[58] Rocco V P, Spinazze P G, Kohn T J, et al. Advances toward new antidepressants beyond SSRIs: 1-Aryloxy-3-piperidinylpropan-2-ols with dual 5-HT_{1A} receptor antagonism/SSRI activities. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14: 2653-2656

[59] Martez-Esparza J, Oficialdegui A M, Paez Sailanes S, et al. New 1-aryl-3-(4-arylpiperazi-n-1-yl) propane derivatives, with dual action at 5-HT_{1A} serotonin receptors and serotonin transporter, as a new class of antidepressants .J Med Chem, 2001, 44: 418-428

[60] Liang J C, Yeh J L, Wang C S, et al. The new generation dihydropyridine type calcium blockers, bearing 4-phenyloxypropanolamine, display alpha-/beta-adrenoceptor antagonist and long-acting antihypertensive activities. Bioorg Med Chem Lett, 2002, 10: 719-722

[61] Morphy R, Rankovic Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. J Med Chem, 2005, 48: 6523-6543

[62] Morphy R, Rankovic Z. Fragments, network biology and designing multiple ligands. Drug Discov Today, 2007, 12: 156-160

[63] Minuz P, Lechi C, Bonapace S, et al. Effects of a new class of NO-releasing NSAIDs platelets and isolated arteries. Inflammopharmacology, 1996, 4: 83-90

[64] Rigas B, Kashifi K. Nitric-oxide-donating NSAIDs as agents for cancer prevention. Trends Mol Med, 2004, 10: 324-330

[65] Kerwin J F Jr. Nitric oxide: a new paradigm for second messengers. J Med Chem, 1995, 38: 4343-4362

[66] Chegaev K, Lazzarato L, Tosco P, et al. NO-donor COX-2 inhibitors. New nitrooxy-substi tuted 1,5-diarylimidazoles endowed with COX-2 inhibitory and vasodilator properties. J Med Chem, 2007, 50: 1449-1457

[67] Daniels D J, Kulkarni A, Xie Z, et al. A bivalent ligand (KDAN-18) containing δ-antagonist andκ-agonist pharmacophores bridges δ2 andκ1 opioid receptor phenotypes. J Med Chem, 2005, 48: 1713-1716

[68] Pontikis R, Dolle V, Guillaumel J, et al. Synthesis and evaluation of of “AZT-HEPT”, “AZ T-pyridone”, and “ddC-HEPT” conjugates as inhibitors of HIV reverse transcriptase. J Med Chem, 2000, 43: 1927-1939

[69] Rachid Z, Brahimi F, Qiu Q, et al. Novel nitrogen mustard-armed Combi-Molecules for the selective targeting of epidermal growth factor receptor overexpessing solid tumors: discovery of an unusual structure-activity relationship. J Med Chem, 2007, 50: 2605-1608

[70] Mewshaw R E, Meagher K L, Zhou P, et al. Studies Toward the discovery of the next generation of antidepressants. Part 2: Incorporating a 5-HT_{1A} antagonist component into a class of serotonin reuptake inhibitors. Bioorg Med Chem Lett, 2002, 12: 307-310

[71] Mewshaw R E, Kavanagh J, Stack G, et al. New generation dopaminergic agents. 1. Discovery

of a novel scaffold which embraces the D2 agonist pharmacophore. structure-activity relationships of a series of 2-(aminomethyl)chromans. J Med Chem, 1997, 40: 4235-4256
[72] Malleron J L, Gueremy C, Mignani S, et al. New indole derivatives as potent and selective serotonin uptake inhibitors. J Med Chem, 1993, 36: 1194-1120
[73] Malleron J L, Gueremy C, Mignani S, et al. New indole derivatives as potent and selective serotonin uptake inhibitors. J Med Chem, 1993, 36: 1194-1120
[74] Giannaras A, Selig W, Ellis J, et al. The effect of a novel, dual function histamine H1 receptor antagonist/5-lipoxygenase enzyme inhibitor on *in vivo* dermal inflammation and extravasation. Eur J Pharmacol. 2005, 506: 265-271
[75] Giannaras A, Selig W, Ellis J, et al. The effect of a novel, dual function histamine H1 receptor antagonist/5-lipoxygenase enzyme inhibitor on *in vivo* dermal inflammation and extravasation. Eur J Pharmacol, 2005, 506: 265-271
[76] Rachid Z, Katsoulas A, Williams C, et al. Optimization of novel combimolecules: identification of balanced and mixed bcr-abl/DNA targeting properties. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 4248-4253
[77] Robl J A, Sun C Q, Stevenson J, et al. Dual metalloprotease inhibitors: mecaptoacetyl-based fused heterocyclic dipeptide mimetics as inhibitors of angiotensin-converting enzyme and neutral endopeptidase. J Med Chem, 1997, 40: 1570-1577
[78] Murugesan N, Tellew J E, Gu Z, et al. Discovery of N-isoxazolyl biphenylsulfonamides as potent dual angiotensin II and endothelin A receptor antagonists. J Med Chem, 2002, 45: 3829-3835
[79] Murugesan N, Gu Z, Fadnis L, et al. Dual angiotensin II and endothelin A receptor antagonists: synthesis of 2¢-substituted *N*-3-isoxazolyl biphenylsulfonamides with improved potency and pharmacokinetics. J Med Chem, 2005, 48: 171-179
[80] Meyer M D, Hancock A A, Tietje K, et al. Structure-activity studies for a novel series of *N*-(arylethyl)-*N*-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylmethyl)-*N*-methylamines possessing dual 5-HT uptake inhibiting and R2-antagonistic activities. J Med Chem, 1997, 40: 1049 -1062
[81] Lazer E S, Wong H C, Possanza G J, et al. Anti-inflammatory 2,6-di-tert-butyl-4(2-arylethenyl) phenols. J. Med. Chem, 1989, 32: 100-104
[82] Lazer E S, Wang H C, Wegner C D, et al. Effect of structure on potency and selectivity in 2,6-disubstituted 4-(2-arylethenyl)phenol lipoxygenase inhibitors. J Med Chem, 1990, 33: 1892-1898
[83] Connor D T, Cetenko W A, Sorenson R J, et al. Oxazole, thiazole, and imidazole od 2,6-di-tert-butyl phenol as dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors. Bioorg Med Chem Lett, 1993, 3: 1729-1734
[84] Unangst P C, Connor D T, Cetenko W A, et al. Synthesis and biological evaluation of 5-[[3,5-bis (1,1-dimethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]oxazoles, -thiazoles, and -imidazoles: Novel dual 5-LOX and COX inhibitors with antiinflamatory activity. J Med Chem, 1994, 37: 322-328
[85] Leadbetter M R, Adams S M, Bazzini B, et al. Hydrophobic vancomycin derivatives with improved ADME properties: Discovery of telavancin (TD-6424). J Antibiot, 2004, 57: 326-336

[86] Higgins D L, Chang R, Debabov D V, et al. Telavancin, a multifunctional lipoglycopeptide, disrupts both cell wall synthesis and cell membrane integrity in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49: 1127-1134

[87] Nicas T I, Mullen D L, Flokowitsch J E, et al. Semisynthetic glycopeptide antibiotics derived from LY264826 active against vancomycin-resistant enterococci. Antimicrob Agents Chemother, 1996, 40: 2194-2199

[88] Morphy R, Kay C, Rankovic Z. From magic bullets to designed multiple ligands. Drug Discovery Today, 2004, 9: 641-651

[89] Veber D F, Johnson S R, Cheng H Y, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. J Med Chem, 2002, 45: 2615-2623

[90] Morphy R, Rankovic Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. J Med Chem, 2005, 48: 6523-6543

[91] Redinbo M R. Promiscuity: what protects us, perplexes us. Drug Discovery Today, 2004, 9: 431-432

[92] Ekroos M, Sjoegren T. Structural basis for ligand promiscuity in cytochrome P450 3A4. Proc Natl Acad Sci USA, 2006,103: 13682-13687

[93] Frantz S. Drug discovery: playing dirty. Nature, 2005, 437: 942-943

[94] Hopkins A L, Mason J S, Overington J P. Can we rationally design promiscuous drugs? Curr Opin Struc Biol, 2006, 16: 127-136

[95] Wermuth C G. Selective optimization of side activities: the SOSA approach. Drug Discovery Today, 2006, 11: 160-164

[96] Stein P D, Hunt J T, Floyd D M, et al. The Discovery of Sulfonamide Endothelin Antagonists and the Development of the Orally Active ETA Antagonist 5-(dimethylamino)-*N*-(3,4-dimethyl-5-isoxazolyl)- 1-naphthalenesulfonamide. J Med Chem, 1994, 37: 329-331

[97] Murugesan N, Gu Z, Spergel S, et al. Biphenylsulfonamide endothelin receptor antagonists. 4. discovery of *N*-[[2'-[[(4,5-dimethyl-3-isoxazolyl)amino]sulfonyl]-4-(2-oxazoly l)[1, 1'-biphenyl]-2-yl]methyl]-*N*,3,3-trimethylbutanamide (BMS-207940), A highly potent an -d orally active ETA selective antagonist. J Med Chem, 2003, 46: 125-137

[98] Bromidge S M, Brown A M, Clarke S E, et al. 5-chloro-*N*-(4-methoxy-3-piperazin-1-ylpheny-l)-3-methyl-2-benzothiophenesulfonamide (SB-271046): A potent, selective, and orally bioavailable 5-HT6 receptor antagonist. J Med Chem, 1999, 42: 202-205

[99] Foley A G, Murphy K G., Hirst W D, et al. The 5-HT(6) receptor antagonist SB-271046 reverses scopolamine-disrupted consolidation of a passive avoidance task and ameliorates spatial task deficits in aged rats. Neuropsychopharmacology, 2004, 29(1): 93-100

[100] Baures P W, Peterson S A, Kelly J W. Discovering transthyretin amyloid fibril inhibitors by limited screening. Bioorg Med Chem, 1998, 6: 1389-1401

[101] Oza V B, Smith C, Raman P, et al. Synthesis, structure and activity of diclofenac analogues as transthyretin amyloid fibril formation inhibitors. J Med Chem, 2002, 45: 321-332

[102] Pascal Y, Andrianjara C R, Auclair E, et al. Synthesis and structure activity relationships of 4-oxo-1-phenyl-3,4,6,7-tetrahydro-[1,4] diazepino [6,7,1-hi] indoles:novel PDE4 inhibitors.

Bioorg Med Chem Lett, 2000, 10: 35-38

[103] Burnouf C, Auclair E, Avenel N, et al. Synthesis, structure-activity relationships, and pharmacological profile of 9-amino-4-oxo-1-phenyl-3,4,6,7-tetrahydro[1,4]diazepino[6,7,1-hi]indoles:discovery of potent, selective phosphodiesterase type 4 inhibitors. J Med Chem, 2000, 43: 4850-4867

[104] Wermuth C G, Schlewer G, Bourguignon J J, et al. 3-Aminopyridazine derivatives with atypical antidepressant, serotonergic and dopaminergic activities. J Med Chem, 1989, 32: 528-537

[105] Wermuth C G, Bourguignon J J, Hoffmann R, et al. SR46559A and related aminopyridazines are potent muscarinic agonist with no cholinergic syndrome. Bioorg Med Chem Lett, 1992, 2: 833-836

[106] Contreras J M, Yveline M R, Chayer S, et al. Aminopyridazines as acetylcholinesterase inhibitors. J Med Chem, 1999, 42: 730-741

[107] Contreras J M, Parrot I, Sippl W, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationships of a series of 3-[2-(1-benzylpiperidin-4-yl)ethylamino]pyridazine derivatives asacetylcholinesterase Inhibitors. J Med Chem, 2001, 44: 2707-2718

[108] Di L, Kerns E H. Profiling drug-like properties in discovery research. Curr Opin Chem Biol, 2003, 7: 402-408

[109] Oprea T I, David A M, Teague S J, et al. Is there a difference between leads and drugs? J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2001, 41: 1308-1315

[110] Wenlock M C, Austin R P, Barton P, et al. A comparison of physiochemical property profiles of development and marketed oral drugs. J Med Chem, 2003, 46: 1250-1256

[111] Abad-Zapatero C, Metz J T. Ligand efficiency indices as guideposts for drug discovery. Drug Discov Today, 2004, 10: 465-469

[112] Andrews P, Craik D J, Martin J L. Functional group contributions to drug-receptor interactions. J Med Chem, 1984, 27: 1648-1657

[113] Kuntz I K, Chen K, Sharp K A, et al. The maximal affinity of ligands. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 9997–10002

[114] Hopkins A L, Groom C R, Alex A. Ligand efficiency: a useful metric for lead selection. Drug Discovery Today, 2004, 9: 430-431

[115] Abad-Zapatero C, Metz J T. Ligand efficiency indices as guideposts for drug discovery. Drug Discov Today, 2005, 10: 464-469

[116] Congreve M, Chessari G, Tisi D, et al. Recent developments in fragment-based drug discovery. J Med Chem, 2008, 51: 3661-3680

[117] Shuker S B, Hajduk P J, Meadows R P, et al. Discovering high-affinity ligands for proteins: SAR by NMR. Science, 1996, 274: 1531-1534

[118] Skinner A L, Laurence J S. High-field solution NMR spectroscopy as a tool for assessing protein interactions with small molecule ligands. J Pharm Sci, 2008, 97: 4670-4695

[119] Jhoti H, Cleasby A, Verdonk M, et al. Fragment-based screening using X-ray crystallography and NMR spectroscopy. Curr Opin Chem Biol, 2007, 11: 485-493

[120] Neumann T, Junker H D, Schmidt K, et al. Surface plasmon resonance, SPR-based fragment

screening: advantages and applications. Curr Top Med Chem, 2007, 7: 1630-1642
[121] Hesterkamp T. Barker J, Davenport A, et al. Fragment based drug discovery using fluoresceence correlation: spectroscopy techniques: challenges and solutions. Curr Top Med Chem, 2007, 7: 1582-1591
[122] Annis D A, Nickbarg E, Yang X, et al. Affinity selection-mass spectrometry screening techniques for small molecule drug discovery. Curr Opin Chem Biol, 2007, 11: 518-526
[123] Congreve M. Carr R, Murray C, et al. A 'rule of three' for fragment-based lead discovery.Drug Discov Today, 2003, 8: 876-877
[124] Chessari G, Woodhead A J. From fragment to clinical candidate—a historical perspective. Drug Discov Today, 2009, 14: 668-675
[125] Howard S, Berdini V, Boulstridge J A, et al. Fragment-based discovery of the pyrazol-4-yl urea (AT9283), a multitargeted kinase inhibitor with potent aurora kinase activity. J Med Chem, 2009, 52: 379-388
[126] Saxty G, Woodhead S J, Berdini V, et al. Identification of inhibitors of protein kinase B using fragment-based lead discovery. J Med Chem, 2007, 50: 2293-2296
[127] Martyn F M, Callaghan O, Chessari G al. Fragment-based discovery of mexiletine derivatives asorally bioavailable inhibitors of urokinase-type plasminogen activator. J Med Chem, 2008, 51: 183-186
[128] Wyatt P G, Woodhead A J, Berdini V, et al. Identification of *N*-(4-piperidinyl)-4-(2,6-dichlorobenzoylamino)-1*H*-pyrazole-3-carboxamide (AT7519), a novel cyclin dependent kinase inhibitor using fragment-based X-ray crystallography and structure based drug design. J Med Chem, 2008, 51: 4986-4999
[129] Tsai J, Lee J T , Wang W, et al. Discovery of a selective inhibitor of oncogenic B-Raf kinase with potent antimelanoma activity. Proc Nat Acad Sci USA, 2008, 105: 3041-3046

中 文 索 引

C

D

E

F

G

H

J

K

L

M

N

O

P

Q

R

S

T

W

X

其他

英 文 索 引

D

M

Q

R

S

T

U

V

W

X

Z

Others